

Universidad Pública de Navarra

Nafarroako Unibertsitate Publikoa

**ESCUELA TECNICA SUPERIOR
DE INGENIEROS AGRONOMOS**

***NEKAZARITZAKO INGENIARIEN
GOI MAILAKO ESKOLA TEKNIKO***

**DETERMINACIÓN DE LA FRACCIÓN AROMÁTICA DE LA CARNE DE TORO DE
LIDIA**

presentado por

MAITANE ARTETA HUGUEROS *(e)k*

aurkeztua

**INGENIERO AGRÓNOMO
NEKAZARITZA INGENIARITZA**

Octubre, 2013

CONFORMIDAD DEL DIRECTOR Y TUTOR DEL TRABAJO

FINAL DE CARRERA

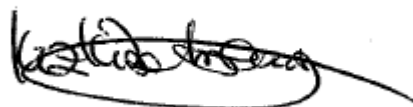
Kizkitza Insausti Barrenetxea, Profesora del Departamento de Producción Agraria de la Universidad Pública de Navarra:

CERTIFICA:

El Trabajo Fin de Carrera titulado **“Determinación de la fracción aromática de la carne de toro de lidia”** que presenta la alumna **Maitane Arteta Hugueros** para optar al título de Ingeniero Agrónomo ha sido desarrollado bajo mi dirección en el Departamento de Producción Agraria de la Universidad Pública de Navarra.

Revisado el trabajo, considero que reúne las condiciones necesarias para su defensa por lo que autorizo la presentación del citado Trabajo Final de Carrera.

Pamplona, 24 de Octubre de 2013



Fdo: Kizkitza Insausti Barrenetxea

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi agradecimiento a las siguientes personas:

A Kizkitza, mi tutora del TFC, por toda su dedicación, las horas destinadas a ello y su gran disponibilidad. Además, por la ayuda prestada, los consejos y las enseñanzas recibidas durante estos meses.

A todo el grupo de Producción Animal, especialmente a María José y Antonio, por el interés mostrado y sus consejos, a Vicky, por las diversas ayudas recibidas por su parte y su gran predisposición.

A Susana, por todo lo aprendido en el laboratorio y por sus ayudas inmediatas al mínimo problema.

A mis padres, por soportar mi estrés, mis ratos de mal genio, y por supuesto por todo el apoyo recibido por su parte, ya no sólo durante estos últimos meses, sino durante toda la carrera. Sin ellos no hubiera sido posible.

A mis amigas, por su constante interés en mi trabajo, por sus ánimos y por hacerme reír en los peores momentos.

Y a todas aquellas personas, que han estado ahí en algún momento dado, apoyándome, durante estos meses, durante estos años.

Muchas gracias a todos

ÍNDICE

Índice de tablas.....	i
Índice de figuras.....	ii
Resumen.....	1
Capítulo I: Introducción.....	2
Capítulo II: Antecedentes.....	4
II.1. Toro de lidia.....	5
II.1.1. Sector de lidia.....	5
II.1.2. Sistema de producción.....	7
II.1.3. Sacrificio.....	10
II.1.4. Tipo de carne.....	11
II.2. Compuestos volátiles.....	13
II.2.1. Compuestos volátiles.....	13
II.2.2. Métodos de medición.....	16
II.2.3. Importancia del flavor en la aceptabilidad de la carne y los productos cárnicos.....	20
II.3. Factores que afectan al flavor.....	23
II.3.1. Raza.....	23
II.3.2. Sexo.....	24
II.3.3. Edad de sacrificio.....	25
II.3.4. Dieta.....	26
II.3.5. Contenido en grasa.....	27
II.3.6. Cocinado.....	28
Capítulo III: Objetivos.....	30
Capítulo IV: Material y métodos.....	32
IV.1. Sacrificio y toma de muestras.....	33
IV.2. Preparación culinaria de las muestras.....	33
IV.3. Análisis instrumental.....	34
IV.3.1. Extracción de los compuestos volátiles.....	34
IV.3.2. Separación y cuantificación de los compuestos volátiles.....	34
IV.3.3. Identificación de los compuestos volátiles.....	35
IV.3.4. Análisis complementarios.....	35
IV.4. Análisis estadístico.....	36

Capítulo V: Resultados y discusión.....	37
V.1. Perfil de los compuestos volátiles.....	38
V.2. Efecto de la ganadería y el tiempo de maduración sobre el perfil de compuestos volátiles.....	46
V.3. Análisis de correlación de los compuestos volátiles con el perfil de ácidos grasos y la valoración sensorial de la carne.....	51
V.4. Análisis factorial.....	54
Capítulo VI: Conclusiones.....	61
Capítulo VII: Bibliografía.....	63

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla II.1.1. Hectáreas dedicadas a la cría de ganado de lidia en la Unión de criadores de toros de lidia (UCTL) en el año 2010.....	8
Tabla II.1.2. Número de festejos mayores en España y Francia del 2000 al 2011.....	10
Tabla IV.1.1. Medidas de la composición química de cada ganadería.....	33
Tabla V.1.1. Compuestos volátiles detectados en el espacio de cabeza dinámico en muestras de carne del músculo longissimus dorsi de toro de lidia.....	39
Tabla V.1.2. Frecuencia absoluta de aparición de los compuestos volátiles detectados en el espacio de cabeza dinámico en muestras de carne del músculo longissimus dorsi de toro de lidia.....	41
Tabla V.2.1. Niveles de significación estadística de los factores ganadería, maduración, de las interacciones ganadería por maduración y de los efectos de la ganadería para cada maduración (tanto la de 0 días como la de 14 días) del análisis de la varianza para los compuestos volátiles detectados en el músculo longissimus dorsi de toro de lidia.....	47
Tabla V.2.2. Media de áreas para el factor ganadería sin maduración en los compuestos volátiles detectados en el espacio cabeza dinámico en las muestras de carne del músculo longissimus dorsi de toro de lidia. (Media de áreas x10 ³).....	48
Tabla V.2.3. Media de áreas para el factor ganadería con 14 días de maduración en los compuestos volátiles detectados en el espacio cabeza dinámico en las muestras de carne del músculo longissimus dorsi de toro de lidia. (Media de áreas x 10 ³).....	50
Tabla V.3.1. Correlaciones entre ácidos grasos y compuestos volátiles a 0 días de maduración.....	51
Tabla V.3.2. Correlaciones entre ácidos grasos y compuestos volátiles y análisis sensorial a 14 días de maduración.....	53
Tabla V.3.3. Correlaciones entre compuestos volátiles y análisis sensorial a los 14 días de maduración.....	53
Tabla V.4.1. Matriz rotada obtenida a partir del análisis factorial de los ácidos grasos y los compuestos volátiles de la carne de toro de lidia sin madurar.....	55
Tabla V.4.2. Matriz rotada obtenida a partir del análisis factorial de los ácidos grasos, el análisis sensorial y los compuestos volátiles de la carne de toro de lidia madurada 14 días y cocinada.....	58

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura II.2.1. Receptores olfatorios.....	13
Figura II.2.2. Porcentaje del número de compuestos volátiles de acuerdo a su naturaleza química detectados en carne de vacuno cruda.....	15
Figura II.2.3. Porcentaje del número de compuestos volátiles de acuerdo a su naturaleza química detectados en carne de ovino cocinada.....	15
Figura II.2.4. Técnica de espacio de cabeza estático.....	17
Figura II.2.5. a) Proceso de transferencia de los analitos volátiles a la trampa. b) Transferencia de los analitos volátiles desde la trampa hasta el cromatógrafo de gases.....	18
Figura II.2.6. Microextracción en fase sólida.....	19
Figura II.2.7. Esquema del acoplamiento entre la cromatografía de gases y olfatometría.....	20
Figura V.1.1. Porcentaje del número de compuestos volátiles según su naturaleza química detectado en el espacio de cabeza dinámico de muestras de carne del músculo longissimus dorsi de toro de lidia.....	43
Figura V.1.2. Porcentaje relativo de área (PRA) de los compuestos volátiles según su naturaleza química detectados en el espacio de cabeza dinámico del músculo longissimus dorsi de toro de lidia.....	44
Figura V.4.1. Representación de los compuestos volátiles y la composición lipídica en el espacio bidimensional formado por los factores 1 y 2 de la carne de toro de lidia sin madurar.....	56
Figura V.4.2. Representación de las ganaderías en el espacio bidimensional formado por los factores 1 y 2 de la carne de toro de lidia sin madurar.....	57
Figura V.4.3. Representación de los compuestos volátiles, la composición lipídica y el análisis sensorial en el espacio bidimensional formado por los factores 1 y 2 de la carne de toro de lidia madurada 14 días y cocinada.....	59
Figura V.4.4. Representación de las ganaderías en el espacio bidimensional formado por los factores 1 y 2 de la carne de toro de lidia madurada 14 días y cocinada.....	60

RESUMEN

TÍTULO: DETERMINACIÓN DE LA FRACCIÓN AROMÁTICA DE LA CARNE DE TORO DE LIDIA

Alumna: Maitane Arteta Hugueros

La finalidad de este Trabajo Fin de Carrera ha sido caracterizar la fracción aromática de la carne de 9 toros lidiados en la feria de San Fermín 2012 de tres ganaderías distintas. Además se ha estudiado el efecto de la ganadería y la maduración, analizando muestras maduras 24 horas y maduras 14 días.

Se realizó la extracción de los compuestos volátiles mediante la técnica de espacio de cabeza dinámico en un concentrador de muestras de purga y trampa. La separación e identificación de los compuestos volátiles se realizó por cromatografía gaseosa capilar acoplada a un espectrómetro de masas. Para el análisis instrumental las muestras fueron descongeladas 24 horas antes de su análisis y posteriormente se picaron y se analizaron.

El perfil de compuestos volátiles obtenido se ha relacionado con el análisis sensorial realizado por un panel de cata entrenado y con el perfil de ácidos grasos de las muestras.

Fueron identificados un total de 21 compuestos volátiles de las siguientes familias: hidrocarburos alifáticos, aldehídos alifáticos, cetonas alifáticas, hidrocarburos aromáticos, compuestos azufrados, alcoholes alifáticos y ésteres. Los compuestos con mayor presencia fueron la 2-propanona y el etanol.

La familia que presenta más diferencias significativas por maduración y ganadería es la de los aldehídos, siendo etanal, octanal, nonanal y hexanal los compuestos afectados. Estos compuestos, aumentan su PRA al aumentar la maduración, debido probablemente a la oxidación de los ácidos grasos y también se observan mayores PRA para la ganadería uno que para las otras dos. Además, el etanol también presenta diferencias significativas, tanto por ganadería como por maduración, siendo mayor conforme aumenta la maduración y mayor para la ganadería uno, al igual que lo hacen los aldehídos.

Las correlaciones entre ácidos grasos y compuestos volátiles aumentan con la maduración. Respecto a los atributos sensoriales el olor a hígado es el único que presenta correlaciones con los ácidos grasos, y el flavor a sangre y la valoración global los que presentan correlaciones con los compuestos volátiles. El análisis de componentes principales apoya algunas de las correlaciones observadas. Sin embargo, dicho análisis no corrobora los resultados del análisis descriptivo en los que se diferencia claramente la ganadería uno respecto las otras dos.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

I. INTRODUCCIÓN

Hoy en día, el toro de lidia no vive su mejor momento en España, esto se debe fundamentalmente a dos motivos: la crisis económica y una corriente política antitaurina. Desde 2007 España sufre una fuerte crisis económica que ha hecho disminuir el número de festejos taurinos realizados y a su vez ha ido aumentando una corriente política antitaurina cuyo máximo fue la Ley 28/2010, del 3 de agosto, aprobada en Cataluña, por la que se prohíben las corridas de toros y los espectáculos taurinos de cualquier modalidad que incluyan la muerte del animal y la aplicación de las suertes de la pica, las banderillas y el estoque.

Por estos motivos, hay un excedente de animales en las ganaderías. Estos animales muchas veces tienen que ser sacrificados sin pasar por la lidia, de modo que su valor se ve disminuido, poniendo así en peligro la rentabilidad de la explotación, ya que el ganadero recibe un precio por el animal inferior al coste de producción.

Además, la carne de toro de lidia es una carne cuyo consumo principalmente se reduce a las épocas de los festejos taurinos y a los ámbitos locales. Es una carne interesante, debido a que se diferencia de las demás en su sistema de producción y sacrificio. Pero existen pocos estudios que analicen sus características físico-químicas y organolépticas.

Por este motivo, en el presente trabajo se va a estudiar el perfil aromático de la carne de los toros lidiados en la feria de San Fermín 2012, empleando análisis instrumentales y estadísticos, de esta manera y junto a otros estudios, se intentará describir el perfil característico de la carne de toro de lidia.

CAPÍTULO II

ANTECEDENTES

II. ANTECEDENTES

II.1 Toro de lidia

II.1.1 Sector de lidia

En la actualidad, el sector de producción de Toro de Lidia en España ocupa un lugar muy destacado dentro del panorama ganadero nacional. Nutre de materia prima a la inmensa mayoría de los espectáculos taurinos que se celebran en nuestro país y parte de Portugal y Francia, generando una gran cantidad de puestos de trabajo y considerables ingresos.

La raza de Lidia está distribuida en 1.142 ganaderías, ocupando más de 400.000 hectáreas de dehesa a lo largo de todo el territorio nacional. 251.000 cabezas de ganado bravo constituyen el núcleo activo de la raza bovina autóctona de fomento más numerosa de nuestro país y la segunda, en censos, después de la Frisona (ARCA, 2010).

Es posible recoger datos de criadores que lidiaron toros en el siglo XVII e incluso antes, pero es en el siglo XVIII cuando se documenta una organización ganadera dedicada a la cría de toros bravos para su lidia en plazas, constituyendo la base de un espectáculo (Lomillos et al. 2012). A finales del siglo XIX se produce una aceleración en la creación de ganaderías bravas. De una forma lenta, pero continua, el Toro de Lidia pasó de una vida libre a otra más vigilada, convirtiéndose en la figura principal del espectáculo (Lomillos et al. 2012).

Respecto la celebración de espectáculos taurinos en los últimos 50 años se observan dos puntos de inflexión: el primero en la década de los 60 y el segundo en la década de los 90, donde la oferta de espectáculos se dispara. Si se analizan los últimos 10 años se observa un gran aumento hasta el año 2007, año en el que se alcanza la cota más alta de espectáculos taurinos registrada en la historia. A partir de ese año, España se ha visto envuelta en una grave crisis económica, que ha influido de manera decisiva en este tipo de espectáculos, observando una disminución del 38% de los mismos en tan sólo tres años. A la crisis hay que añadirle una corriente política antitaurina con altibajos, hoy en día cada vez más extendida, que ha hecho que los ayuntamientos dejen de financiar parcialmente los espectáculos taurinos en determinados municipios.

Esta disminución en el número de festejos celebrados se ve a su vez reflejada en un menor número de reses lidiadas, lo que ha creado un problema de excedente de animales en el campo en los últimos años. Este aumento de la oferta de producto ha abaratado los precios y los ganaderos tienen más difícil alcanzar la rentabilidad en sus explotaciones.

El censo total de reses de ganado bravo en Navarra es de 9.038 cabezas. Están distribuidas en 60 ganaderías de las cuales, 38 son ganaderías con ganado bravo de la tierra y cuentan con cerca de 8.000 animales, 20 ganaderías cuentan con una cantidad reducida de animales y se dedican sobre todo a organizar capeas y 2 ganaderías crían ganado bravo con destino a la lidia ordinaria y trabajan con encaste Domecq, incluido dentro de la casta Vistahermosa y cuentan con 250 cabezas, aproximadamente (Censo del Departamento de Desarrollo Rural y Medio Ambiente del Gobierno de Navarra, 2010).

Del total de animales censados, los dedicados a festejos populares suponen 7.965 animales, distribuidos en esas 38 ganaderías mencionadas de ganado bravo de la tierra. La mayoría son explotaciones pequeñas, tanto en número de cabezas como por la base territorial que manejan. Las explotaciones más profesionales manejan desde 200 cabezas hasta 1.000 la más grande. Y su base territorial oscila entre las 25 y las 250 hectáreas (Reta, 2010).

En cuanto a razas, tradicionalmente se ha distinguido dentro de Navarra entre las ganaderías que trabajan con ganado de la tierra y las que tienen encastes dedicados a la lidia clásica. Dentro del ganado considerado como “de la tierra” se incluyen los animales de la raza autóctona denominada Casta Navarra (Orrillo, 2010).

Este ganado de lidia vivió un tiempo de esplendor y de gran prestigio en las últimas décadas del siglo XIX. Algunos de sus animales y ganaderías fueron famosos en los ruedos españoles por su bravura y su genio. Pero después de eso, las ganaderías de lidia de Navarra se fueron extinguiendo por el rechazo de las figuras del toreo. Sus toros resultaban vistosos para el público pero muy peligrosos para los diestros. De esta forma los astados navarros comenzaron a desaparecer de los carteles taurinos y casi también de los campos de las Riberas del Ebro. Sin embargo, este ganado bravo no ha desaparecido. Se ha mantenido vivo en las Bardenas y las corralizas de la Ribera, gracias a la vocación y empeño de algunos ganaderos, al apoyo de las Administraciones públicas y por el éxito que tienen estos animales en la tauromaquia popular. Se ha mantenido sobre todo en festejos populares, tales como capeas, encierros, recortes y similares espectáculos donde resultan adecuadas las condiciones de este tipo de ganado por su bravura, ligereza, agresividad y astucia naturales, unidas a su gran resistencia física. Sus condiciones naturales, unidas a la experiencia que acumulan en el transcurso de sus continuas participaciones en los espectáculos, vienen dotando de interés y emoción a los festejos tradicionales que se celebran en tierras navarras, aragonesas,

vascas, riojanas, catalanas y valencianas, y han posibilitado que algunos vestigios de Casta Navarra hayan podido llegar hasta nuestros días.

II.1.2 Sistema de producción

El método tradicional de explotación de la raza de lidia continúa siendo en su inmensa mayoría un sistema extensivo puro. Un elevado porcentaje de las ganaderías bravas se encuentran ubicadas en zonas de dehesa. Las fincas dedicadas a la crianza del vacuno bravo siguen siendo amplias, pero de mucha menor extensión que lo fueron hace treinta o cuarenta años.

Gracias a su gran rusticidad y capacidad de adaptación, la raza de lidia es capaz de aprovechar cualquier tipo de terreno, incluso aquellos que ofrecen una climatología extrema.

La crianza del toro de lidia ha estado vinculada tradicionalmente a la cuenca hidrográfica española, especialmente a los ríos Duero, Tajo y Guadalquivir, en cuyas proximidades o en las de sus afluentes, se han venido desenvolviendo las vacadas bravas. El curso de estos tres ríos marca por tanto, las tres zonas ganaderas por excelencia. El Duero y sus afluentes definirían la zona castellano-leonesa centrada fundamentalmente en la provincia de Salamanca. El Tajo y sus afluentes, la zona centro, representada sobre todo por Madrid, Toledo, Cáceres y Badajoz. Y finalmente, el Guadalquivir señalaría la zona de Andalucía donde destaca la producción en las provincias de Cádiz, Sevilla, Jaén y Huelva. Resta aún otra zona con producción marginal, vinculada al río Ebro y que delimita un territorio aislado de las restantes áreas dedicadas a la crianza del vacuno bravo, que se centra en las provincias de Zaragoza y Navarra. Por comunidades Autónomas, el mayor número de explotaciones aparece en Andalucía, seguida por Castilla-León, Extremadura, Castilla-La Mancha y Madrid, mientras que a nivel provincial destaca su presencia en Salamanca, Sevilla y Cádiz (Rodríguez, A. 1996) (Tabla.II.1.1).

Tabla. II.1.1. Hectáreas dedicadas a la cría de ganado de lidia en la Unión de criadores de toros de lidia (UCTL) en el año 2010. Fuente: web UCTL

Hectáreas dedicadas a la cría en la UCTL			
CC.AA	Provincia	Nº fincas	Superficie (Has)
Andalucía	Cádiz	71	28.096
	Córdoba	18	6.982
	Huelva	36	24.905
	Jaén	34	21.607
	Málaga	3	574
	Sevilla	81	61.931
	TOTAL	243	144.095
Castilla-La Mancha	Albacete	8	7.757
	Ciudad Real	9	8.272
	Cuenca	0	-
	Guadalajara	2	1.300
	Toledo	22	14.177
	TOTAL	41	31.506
Castilla y León	Ávila	5	3.218
	Burgos	1	600
	León	1	370
	Salamanca	98	39.765
	Segovia	4	1.422
	Valladolid	2	825
	Zamora	2	807
	TOTAL	113	47.007
Extremadura	Cáceres	41	24.259
	Badajoz	51	25.955
	TOTAL	92	50.214
Madrid	Madrid	38	6.392
	TOTAL	38	6.392
Murcia	Murcia	2	1.236
	TOTAL	2	1.236
España	TOTAL	529	280.450

La alimentación del ganado de lidia se realiza principalmente en régimen extensivo, el cual se complementa en épocas determinadas de escasez, como son algunos meses del verano y del invierno, con forrajes conservados y concentrados para que su estado corporal no se vea afectado en exceso. Dado el temperamento del ganado de lidia, en el momento en el que se dan estos problemas de subalimentación no puede ser estabulado como otros tipos de ganado explotados extensivamente. Por ello, el ganado debe

permanecer en el campo, aprovechando al máximo los recursos que éste le ofrece, tanto de alimento como de refugio (Purroy, A. et al. 2003).

Los becerros reciben henos y concentrados como alimentación suplementaria en las épocas de carestía, buscando un tipo de nutrientes que contribuyan al desarrollo del esqueleto de los animales y aporten poca grasa a su dieta. En definitiva, se usan piensos de crecimiento hasta el momento en el que los toros van a ser lidiados, cuando estos piensos suelen sustituirse por otros de acabado, que también deben tener bajo contenido en grasa. Durante esta etapa final de la fase productiva, los concentrados van a constituir la base de la alimentación de los toros de lidia y el aporte de hierba va a limitarse mucho, para conseguir que los ejemplares alcancen los pesos que se exigen en las plazas.

El sistema habitual de reproducción en el vacuno de lidia es la monta natural en completa libertad. Para ello, el ganadero establece distintos lotes de reproductoras integrado por un número determinado de vacas que oscila entre diez y setenta por cada semental en cercados separados. El mayor o menor número de vacas que se asignen a cada semental va a depender de la edad del reproductor y de que se trate de un toro nuevo, que esté a prueba, o de un semental probado del que ya se haya contrastado la calidad de su descendencia.

La base de la selección en el vacuno de lidia continua siendo la prueba funcional, la llamada “tienta”, que se aplica a todas las hembras y a algunos machos elegidos previamente por su morfología y genealogía. Esta prueba de la tienta se lleva a cabo en la plaza existente a tal fin en cada ganadería y consiste en reproducir los estímulos a los que el toro se enfrenta durante su lidia en la plaza en los festejos formales, aunque con algunas modificaciones. La tienta de hembras se realiza generalmente cuando éstas tienen dos años de edad (Rodríguez, A. 1996).

Además de las corridas de toros, existen otros festejos taurinos (Tabla II.1.2). En este sentido, el Reglamento Taurino establece la siguiente clasificación en función de la edad de la res y de las características del espectáculo: corridas de toros, novilladas con y sin picadores, rejoneo, becerradas, y otros, como festivales, toreo cómico y festejos taurinos.

Tabla II.1.2. Número de festejos mayores en España y Francia del 2000 al 2011. Fuente: web UCTL.

Año	Total festejos mayores
2000	2.114
2001	2.035
2002	2.119
2003	2.199
2004	2.124
2005	2.176
2006	2.280
2007	2.313
2008	2.008
2009	1.569
2010	1.487
2011	1.307

II.1.3 Sacrificio

Los toros desde el momento en que salen de su medio natural para ser transportados a la plaza, hasta que se produce su muerte en el ruedo, tienen que soportar una serie de cambios que suponen un fuerte estrés para su organismo, pudiendo afectar a las características organolépticas de la carne obtenida. Es importante señalar las largas distancias que recorren estos animales desde las ganaderías hasta las plazas. En algunos casos como por ejemplo Pamplona, donde las ganaderías se encuentran hasta a 1.000 km de distancia, los animales realizan el viaje en un solo día. A esto hay que añadirle que normalmente los festejos se realizan en las épocas de primavera y verano con las altas temperaturas que esto supone. Tras el viaje los animales permanecen estabulados en la ciudad de destino durante unos días para que puedan recuperarse del largo viaje, lo que también supone un estrés para el animal, ya que es un sitio desconocido para él y diferente a su sistema de producción (De las Heras, J. 2012).

Pero el factor que más influye en las características de la carne es la propia lidia. En ella la res sufre un desgaste mediante la aplicación de dos tipos de castigo: la puya, aplicada por un picador, que le provoca una herida dorsal que busca el desangrado de la res, y las banderillas, que provocan además destrozos en la musculatura (Caballero, J.R.)

Este estrés generado durante todo el proceso y el intenso ejercicio físico que realizan los toros durante la lidia, supone el agotamiento de las reservas de glucógeno y con ello el consiguiente elevado pH en el proceso post-mortem, como se verá a continuación.

II.1.4 Tipo de carne

La carne de toro bravo en la mayor parte de las regiones españolas donde se celebran corridas de toros se considera un subproducto, teniendo incluso que ser exportada a otras zonas donde tiene más aceptación. En estas últimas regiones, no obstante, la aceptación se limita a épocas muy concretas y de pequeña duración que generalmente coinciden con las fiestas patronales anuales; es el caso por ejemplo, de la Feria del Toro en los Sanfermines de Pamplona (7-14 de Julio), donde es tradición consumir un plato denominado “estofado de toro”. Como la demanda de carne es elevada y la carne de los toros lidiados los primeros días de la feria tiene que sufrir un proceso de maduración de varios días para poder ser consumida, es necesario importar carne de otras ferias cercanas que se han celebrado con anterioridad (Burgos, Soria...). Esta demanda de carne de toro es nula antes de los Sanfermines y se va extinguiendo justo después de los mismos, hasta ser casi inexistente en el mes de Agosto.

Sería muy interesante revalorizar la carne de toro ya que ello podría proporcionarle un valor añadido a las explotaciones de ganado bravo. En primer lugar, habría que realizar estudios rigurosos para determinar la calidad de la carne de toro una vez lidiado. Posiblemente, la calidad de la carne se vea afectada por el estrés emocional y físico que sufre el animal durante la lidia, así como por el tipo de muerte y de faenado, el cual tiene lugar en el desolladero de la plaza a los pocos minutos de la misma. Además, las operaciones que se realizan antes de la lidia (transporte, estancia en los corrales, apartado...) también pueden incidir en la calidad de la carne.

La carne de ganado bravo no procede únicamente de los animales lidiados en plazas de toros. Existen otros animales de lidia que son sacrificados en el matadero sin haber sufrido el estrés de la lidia: vacas de desecho, eralas de desecho de tiente y todos aquellos animales que deben ser sacrificados por inutilizarse para la lidia (rotura de cuernos cornadas...).

Con la normativa por la que se fijan las condiciones sanitarias aplicables a la producción y comercialización de carnes de reses de lidia (Real Decreto 260/2002 de 8 de marzo (BOE 15/3/2002)) esta carne podrá comercializarse en fresco como se hacía tradicionalmente, pero se ha permitido así mismo que puedan salir al mercado de forma refrigerada y/o congelada. Sin embargo, esta carne no se puede industrializar (transformación y preparados cárnicos) ni se podrá picar.

El sistema de producción animal (raza, peso y edad al sacrificio) confieren a la carne de toro de lidia un sabor específico diferente a otras razas de carne. La carne de toro de lidia se caracteriza por un color oscuro debido a su alto pH y su alto contenido en mioglobina, un contenido de hierro alto y bajo contenido de grasa intramuscular (sobre el 1,5%) con una relación equilibrada en ácidos grasos poliinsaturados/ácidos grasos saturados (AGPI/AGS) desde un punto de vista nutricional. Esta carne posee un alto

porcentaje de AGPI (sobre el 21%), alrededor de un 36% de AGM y sobre un 41% de ácidos grasos saturados. El alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados en el toro de lidia supone una relación AGPI/AGS superior a 0,45 que es el valor recomendado (Warren et al. 2008). Este hecho, unido a su bajo contenido en grasa intramuscular, da a la carne muy buenas propiedades nutricionales (Beriaín et al. 2011). Los ácidos grasos más abundantes son el ácido oleico, seguido del ácido palmítico y del esteárico. Según Beriaín et al. (2011) el contenido en lípidos es menor que en otras carnes de vacuno, lo que puede deberse al bajo nivel de lípidos intramusculares y al tipo de sistema de producción. El contenido en colágeno soluble es inferior al de otras carnes (Beriaín et al. 2011), indicando que la carne de estos toros es más dura ya que el colágeno no gelatiniza después del cocinado y así la carne no alcanza el nivel de terneza adecuado, y por ello necesita más tiempo de cocinado. El pH 48 horas después del sacrificio está por encima de 6. El ejercicio físico intenso que hacen los animales durante la lucha implica el agotamiento de las reservas de glucógeno. Este hecho puede impedir suficiente formación de ácido láctico después del sacrificio con el fin de acidificar la carne y obtener un valor de pH adecuado, dando carnes de alto pH (Beriaín et al. 2011). A pesar de todo ello, no muestra las características de carne oscura, firme y seca (DFD) como sucede en las otras carnes de vacuno con un pH superior a 6,0. Además, Micol et al. (2007) observaron que los músculos presentan un metabolismo muy oxidativo con un contenido muy elevado de fibras lentas (20 - 30 vs 17% en Charolais), y un pequeño contenido de fibras glucolíticas (15 frente a 40% en Charolais). El bajo potencial glucolítico de los animales coincide con los altos valores de pH. La capacidad de estos animales para superar el estrés de la lidia (síndrome general) ha sido esencial para mantener la calidad de la carne de toros de lidia.

II.2 Compuestos volátiles

II.2.1 Compuestos volátiles

El flavor es una propiedad sensorial determinada por componentes de la carne que estimulan receptores del gusto y del olfato. Depende fundamentalmente de compuestos como los aminoácidos y los ácidos grasos, procedentes de la degradación de proteínas y lípidos, que además de tener una acción directa sobre el sabor de la carne, son precursores de un gran número de compuestos volátiles, algunos de ellos responsables del aroma de la misma. Estas sustancias volátiles responsables del aroma son detectadas en los receptores olfatorios a su paso por la parte final de la nariz (Fig.II.2.1).

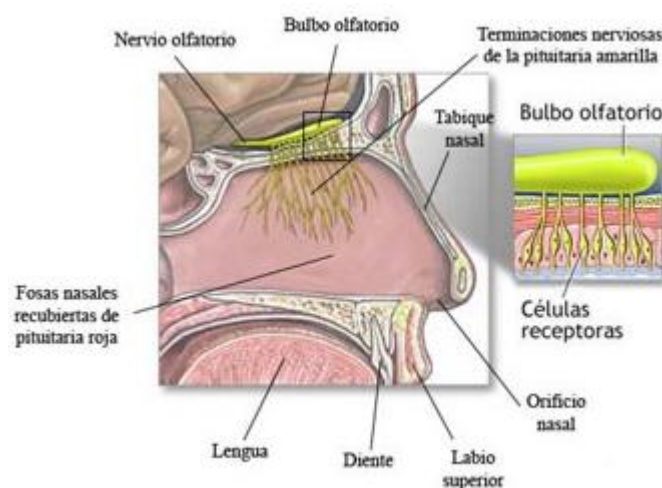


Fig. II.2.1. Receptores olfatorios.

La formación de los compuestos volátiles en carne viene principalmente de reacciones de oxidación lipídica. Otra vía de formación son las reacciones de Maillard (Koutsidis et al. 2008) que tienen lugar fundamentalmente con los incrementos de temperatura durante el cocinado de la carne.

Los compuestos volátiles derivados de los lípidos comprenden aldehídos alifáticos, alcoholes, hidrocarburos y cetonas, todos con cadenas alquilo lineales que contienen cinco o más átomos de carbono. Los alquilofuranos son también derivados de los lípidos. Todos estos volátiles se forman por oxidación térmica de las cadenas de ácidos grasos de los triglicéridos y los fosfolípidos (Elmore et al. 1999).

Los compuestos volátiles formados a través de la reacción de Maillard incluyen nitrógenos heterocíclicos y compuestos de azufre, tales como pirazinas, tiofenos, y

tiazoles, así como furanonas y furfurales. Ciertos compuestos no heterocíclicos también derivan de la reacción de Maillard. Estos incluyen aldehídos de Strecker (2- y 3-metilbutanal benzenacetilaldehído), alcanoides, e hidroxicetonas. Los compuestos alifáticos y furanos disulfuros se forman también a través de la reacción de Maillard (Elmore et al. 1999)

A continuación se mencionan las familias más habituales en carne de vacuno y ovino (Tudela, 2006):

- Cetonas alifáticas: Las cetonas tienen su origen en los procesos de degradación/oxidación de los ácidos grasos poliinsaturados y de degradación aminoacídica. La **2,3 butanodiona** y la **2,3 pentanodiona** son muy habituales en los perfiles de flavor de la carne. Además, las propiedades de estos compuestos en relación con el aroma son bastante conocidas ya que aportan tonos frutales, florales y/o herbales a los alimentos. Las **alcanodionas** también tienen un papel importante ya que incorporan un intenso matiz a mantequilla muy deseable para el aroma global a carne.
- Aldehídos alifáticos: Esta familia es producto mayoritario de la degradación lipídica, además parece que está asociada al flavor característico de cada especie animal. El **hexanal** es un importante aldehído, se obtiene a partir del ácido graso linoleico y del ácido araquidónico, siendo este compuesto uno de los productos principales de la oxidación lipídica. Tiene un elevado potencial aromático con notas a hierba cortada y césped y con sólo trazas, ya contribuye al flavor. Generalmente, la presencia de este compuesto está relacionada con una alimentación a base de grano. El **nonanal**, se obtiene de la oxidación del C18:1n9.
- Hidrocarburos alifáticos: Esta familia se origina a partir de la oxidación lipídica. Su contribución al flavor de la carne no es significativa, aunque tenga una elevada presencia.
- Hidrocarburos aromáticos: Dentro de esta familia están el **benceno** y el **tolueno**. Esta familia tiene una gran importancia en el flavor de la carne, aunque tenga unos umbrales de detección bajos. El tolueno, se ha definido con un aroma a químico o disolvente y el benceno presenta un aroma similar al de la mantequilla.
- Alcoholes alifáticos: Esta familia también es un producto de la oxidación lipídica de los ácidos grasos. El **3-octen-1-ol** se forma de la oxidación del ácido linoleico.
- Compuestos azufrados: Estos compuestos tienen un flavor de elevada intensidad con umbrales de detección muy bajos. Su presencia en trazas ya es efectiva en la formación del aroma y contribuye en gran medida al flavor de la carne.

- Furanos: Tienen propiedades aromáticas que no son muy apreciadas por los catadores, presentando notas a éter, dulce y caramelo. El **2-pentilfurano**, se forma a partir de la autooxidación del ácido linolénico y parece que presenta notas herbáceas y a legumbres.
- Terpenos: Normalmente indican animales alimentados a base de dietas verdes de forraje. La fuente sugerida de algunos terpenos se encuentra en la descomposición de la clorofila. Existen estudios que mostraron que estos compuestos estaban presentes en niveles más altos en animales de pasto. No obstante, no todos los terpenos se relacionan con dietas verdes, como puede ser el **limonene**, detectado en animales alimentados con concentrados.

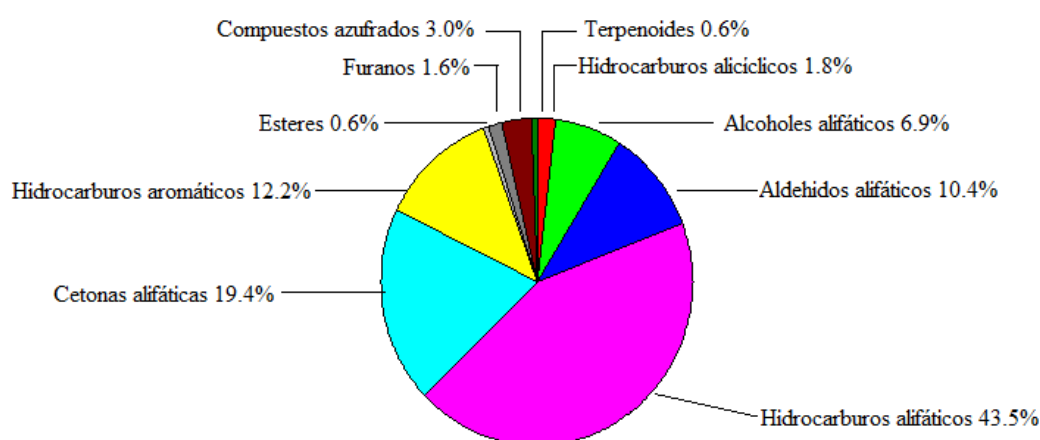


Fig. II.2.2. Porcentaje del número de compuestos volátiles de acuerdo a su naturaleza química detectados en carne de vacuno cruda. Fuente: Insausti, 2001.

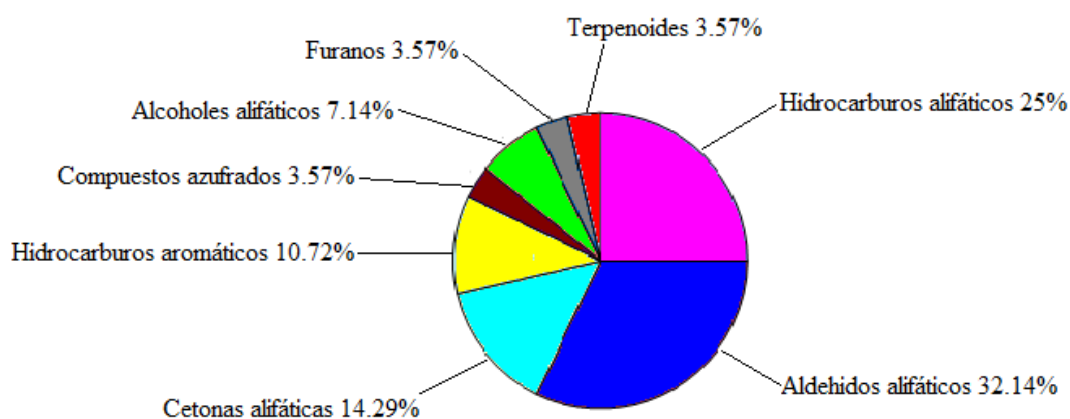


Fig. II.2.3. Porcentaje del número de compuestos volátiles de acuerdo a su naturaleza química detectados en carne de ovino cocinada. Fuente: Tudela, 2006.

En las gráficas anteriores (Fig. II.2.2 y Fig. II.2.3) se puede ver como hay tres familias que destacan en presencia numérica. Los hidrocarburos alifáticos son una de ellas como se ha observado anteriormente, especialmente en la carne cruda. La segunda familia que tiene una gran presencia, especialmente en la carne cocinada, son los aldehídos alifáticos. La última familia con elevada presencia son las cetonas alifáticas, que en este caso tienen un porcentaje similar tanto en carne cruda como en cocinada. Los hidrocarburos aromáticos también son una familia con una presencia similar tanto en carne cruda de vacuno como en carne cocinada de ovino. Los alcoholes alifáticos al igual que los hidrocarburos aromáticos son una familia con una presencia media y similar en carne cruda y cocinada. Por último, existen otras familias con poca presencia, aunque eso no significa que no sean importantes para el flavor, como pueden ser los compuestos azufrados o los terpenoides.

II.2.2 Métodos de medición

El flavor puede medirse de dos formas: una sensorial a través de un panel entrenado y otra instrumental-química. La primera constituye una herramienta útil para caracterizar el aroma y el sabor, tal y como ocurre durante el consumo de carne.

Con la segunda forma de medida se trata de cuantificar únicamente aquellos compuestos aromáticos que se aprecian al consumir la carne. Para esto es necesario que la muestra siga un proceso de tratamiento para conseguir un extracto representativo y su posterior análisis mediante cromatografía.

Para realizar un análisis de los compuestos volátiles primero hay que aislarlos y concentrarlos. Esto antes se realizaba con la técnica de destilación-extracción simultánea (SDE) (Ruiz, M. 2012), pero poco a poco se ha ido avanzando en otros métodos que debido a sus ventajas lo han sustituido, como puede ser la microextracción en fase sólida (SPME) (Ruiz, J. et al. 1998). Watkins et al. (2012) compararon en un estudio estos dos métodos de medición obteniendo como resultado abundancias más elevadas de compuestos volátiles extraídos por SPME en comparación con la SDE. Esto puede deberse al modo de muestreo del SPME donde los compuestos volátiles en el espacio de cabeza estarían en una concentración más alta, en comparación con los compuestos semi-volátiles, debido a la mayor presión de vapor de los volátiles. Por lo tanto, estos serían más fácilmente adsorbidos en la fibra de SPME y como resultado se detectaron cantidades más altas de los mismos. Además, el SPME tiene numerosas ventajas como son el tiempo de análisis, estar exento de disolventes, ser barato en comparación con otros métodos, y fácil de usar.

- Técnica de espacio de cabeza estático:

La muestra (líquida o sólida) se introduce en un vial el cual se cierra mediante un septum. El vial se calienta hasta que se establece el equilibrio entre la muestra y la fase gaseosa, a la que se denomina “espacio de cabeza” (Fig.II.2.4). La introducción de la fase gaseosa en el cromatógrafo puede hacerse manualmente tomando una cantidad conocida con una jeringa o automáticamente con un sistema dosificador electroneumático.

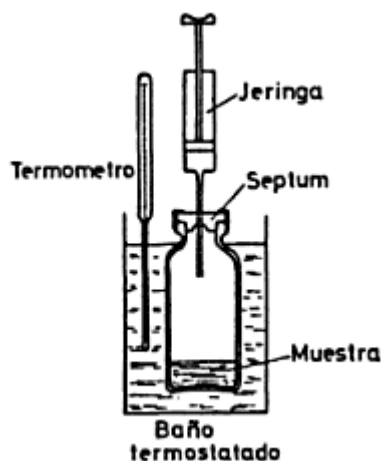


Fig. II.2.4. Técnica de espacio de cabeza estático.

Esta técnica tan sólo analiza los compuestos volátiles presentes en la fase gaseosa de la muestra, por lo que la variabilidad en los resultados obtenidos es relativamente elevada. En estos momentos se emplea más la técnica de espacio de cabeza dinámico.

- Técnica de espacio de cabeza dinámico:

Actualmente es el método más extendido en los estudios de flavor de la carne. Las técnicas de espacio de cabeza dinámico fueron introducidas por Swinnerton et al. (1962, citado en Guadayon 1997) y consisten en arrastrar los compuestos volátiles orgánicos de la muestra, sometida a una temperatura determinada, mediante un flujo constante de un gas inerte. Los compuestos volátiles junto con el gas inerte son retenidos posteriormente en una trampa adsorbente, que a continuación se somete a desorción mediante un disolvente o un incremento de temperatura y se inyecta para su separación por cromatografía de gases (Fig.II.2.5).

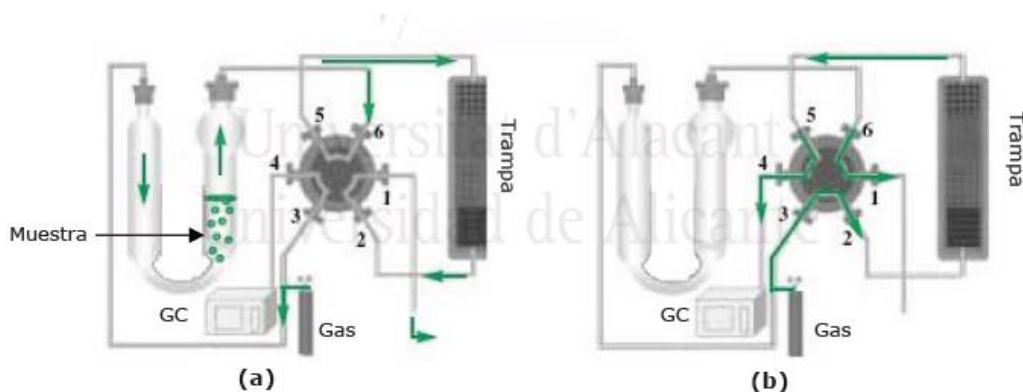


Fig. II.2.5. a) Proceso de transferencia de los analitos volátiles a la trampa.
b) Transferencia de los analitos volátiles desde la trampa hasta el cromatógrafo de gases.

Para la concentración de los compuestos volátiles de la carne antes de su inyección en el cromatógrafo se pueden utilizar distintos materiales. Entre los materiales adsorbentes que se pueden usar para efectuar esta adsorción (carbón activo, silicagel etc.), es muy utilizado en los trabajos de investigación de compuestos volátiles el Tenax (Ruiz, M., 2012) por sus características de afinidad con los compuestos volátiles y su baja afinidad con las moléculas de agua, siempre presentes en el espacio de cabeza de la carne tanto cruda como cocinada.

Respecto al tipo de compuestos detectados, su naturaleza está directamente relacionada con las condiciones de desorción de la trampa. Con temperaturas cercanas a 180°C se identifican principalmente hidrocarburos de baja significación sensorial. Por ello, se recomiendan temperaturas de desorción entre 225-250°C para obtener un mayor porcentaje de compuestos derivados de los lípidos y de mayor contribución sensorial en la carne.

- Microextracción en fase sólida (SPME):

Es una técnica que se basa en la adsorción de los compuestos orgánicos del alimento por una fase sólida inmovilizada sobre una fibra de sílice fundida. Una vez alcanzado el equilibrio, los compuestos adsorbidos se desorben térmicamente en el inyector de un cromatógrafo de gases. Durante el análisis por SPME (Fig.II.2.6), dos equilibrios deben ser alcanzados por los analitos: entre la matriz y el espacio de cabeza y entre el espacio de cabeza y el revestimiento de la fibra (Ruiz, J., 1998).

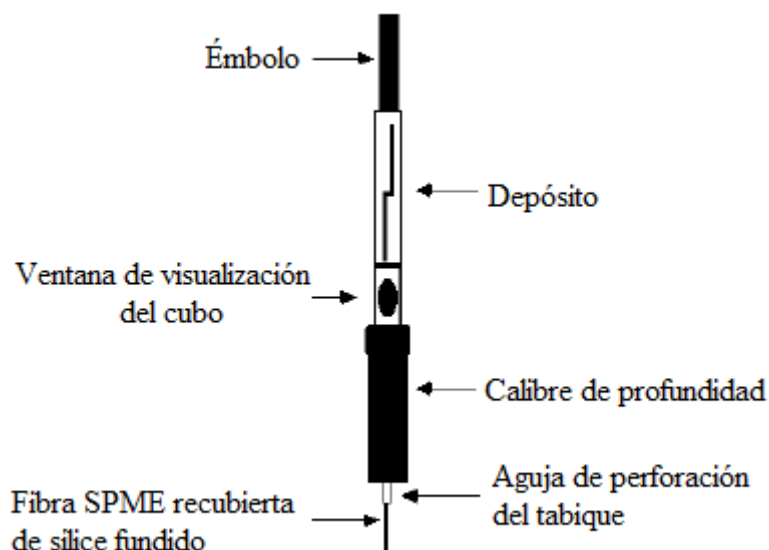


Fig.II.2.6. Microextracción en fase sólida.

Esta técnica posee numerosas ventajas como pueden ser su rapidez y sencillez, se puede acoplar fácilmente a otras técnicas de separación, no requiere de ningún disolvente, es económica y existen diferentes fibras adsorbentes disponibles en el mercado que permiten cierta selectividad.

- Olfatometría:

La Cromatografía de Gases-Olfatometría (CG-O) es la interacción entre los procedimientos sensorial e instrumental, y permite correlacionar cada compuesto químico con su descriptor olfativo (aroma) y de esta manera identificar los compuestos de mayor relevancia olfativa y cuantificar su aporte al aroma global. Es una herramienta eficaz para el análisis de los odorantes claves en los alimentos (Machiels et al. 2003).

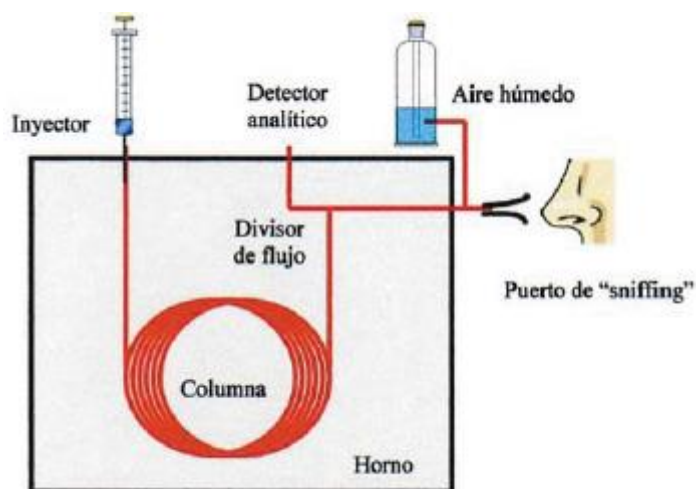


Fig. II.2.7. Esquema del acoplamiento entre la cromatografía de gases y la olfatometría.

Las herramientas necesarias para realizar estudios olfatométricos son un sistema cromatográfico dotado de un puerto olfativo y un panel de sujetos convenientemente formados y entrenados en la percepción, descripción y reconocimiento de olores (Fig.II.2.7). Además, se hace necesario que el conjunto de individuos emplee los mismos descriptores ante un mismo estímulo provocado por los compuestos aromáticos a su salida del cromatógrafo.

La nariz tiene un límite de detección mucho más bajo que cualquiera de los detectores usados en GC, pudiendo detectar sustancias en concentraciones tan bajas, que sería imposible o muy difícil detectarlas con cualquier otro detector. Debido a los bajos umbrales olfativos de detección que presentan algunos compuestos volátiles, esta técnica resulta muy útil para detectar o estudiar el olor de aquellos compuestos que no pueden ser detectados con un detector analítico, o que resulta muy difícil su detección. Además, presenta la ventaja de que compuestos volátiles con índices de retención muy próximos, si presentan olores diferentes podrán ser detectados por olfatometría.

II.2.3 Importancia del flavor en la aceptabilidad de la carne y los productos cárnicos

La percepción del flavor es un factor determinante en la elección de la comida y en la aceptabilidad de los productos por parte de los consumidores. Para ser percibido, los compuestos aromáticos deben ser liberados en la boca durante la descomposición de los alimentos, transferidos a la cavidad nasal para llegar al receptor olfativo y luego ser percibidos.

En un intento de determinar la importancia relativa de la apariencia, el flavor y la textura en la calidad percibida en carne, Schutz y Wahl (1981, citado en Schönfeldt y Strydom 2011) tras realizar una encuesta determinaron que el flavor es el atributo que se valora con mayor importancia en la aceptabilidad del producto. Sin embargo, hay estudios como el de Robbins et al. (2003) en los que la terneza supone el factor más importante en la satisfacción del consumidor de carne de vacuno (12,6 puntos en una escala de 15, respecto a los 12,1 del flavor). De acuerdo con estos resultados, se encuentran estudios que demuestran como cuando la terneza de la carne es aceptable, los consumidores se centran en el flavor como su base principal para la satisfacción (Rodas-González et al. 2009). Monsón et al. (2005) calificaron la terneza y la jugosidad como los atributos fundamentales en la aceptabilidad de la carne de vacuno por parte del consumidor, con valores de correlación de 0,6 y 0,59, respectivamente. El flavor era el siguiente atributo más importante con una correlación de 0,49. Estos resultados concuerdan con los de Glitsch (2000, citado en Robbins et al. 2003) que encontró en la terneza y el flavor los factores más importantes en la “calidad de consumo” de los europeos.

Prescott et al. (2001) realizó un estudio en el que se compararon dos mercados de carne ovina totalmente opuestos, Nueva Zelanda, que es uno de los mayores exportadores y Asia, donde el consumo de carne de ovino no es común, ya que los consumidores no consideran aceptable el flavor a carne de ovino. En este estudio la carne analizada tenía distintos niveles de ácidos grasos volátiles de cadena ramificada (AGVCRs) y de escatol. Los resultados indicaron que los consumidores japoneses preferían las muestras con bajo AGVCRs, teniendo así menor aceptabilidad las muestras con alto AGVCRs. Por el contrario, el bajo nivel de AGVCRs no tuvo ningún impacto en el gusto por los consumidores de Nueva Zelanda. La presencia de escatol tuvo un impacto similar en la preferencia de las muestras para ambos grupos de consumidores, teniendo preferencias por las muestras con niveles de escatol bajas o medias.

También hay estudios acerca de la aceptabilidad del jamón curado. El flavor y el aroma son atributos clave que impactan en la aceptación general de los jamones curados (Pham et al. 2008). Según Pham et al. (2008) de acuerdo con el análisis descriptivo realizado por un panel entrenado, los productos del jamón curado que recibieron las más altas calificaciones de aceptabilidad por los consumidores tenían un aroma y flavor más intenso a “dulce”, “sabroso”, “ahumado”, “melaza” y “caramelizado”. Mientras que los que recibieron puntuaciones más bajas tenían un aroma y flavor más intenso a “rancio”, “curado”, “fermentado”, “complejo de cerdo”, “terroso”, “amargo”, “salado” y “regusto”.

Ruiz et al. (2002) estudiaron como afectan a la aceptabilidad la jugosidad y la intensidad del flavor en el jamón curado, ya que son dos de los atributos sensoriales más importantes de este producto. Como resultados obtuvieron que la intensidad del flavor es muy importante en la aceptabilidad del jamón, puesto que los jamones con falta de

ANTECEDENTES

flavor consiguieron una menor aceptación y que el flavor a rancio tiene una aceptabilidad negativa.

De esta manera se puede observar cómo el flavor tiene un papel fundamental en la aceptabilidad de la carne y los productos cárnicos por parte de los consumidores.

II.3 Factores que afectan al flavor

El flavor es una propiedad influenciada por muchos aspectos ya que, como se ha visto, depende de los compuestos volátiles que se forman y éstos a su vez de factores tan diversos como la dieta o la raza. Otro factor importante del que dependen los compuestos volátiles responsables del flavor es el estado de la carne, es decir, cruda o cocinada, debido a que la carne cruda tiene poco flavor y durante la cocción se desarrollan los sabores característicos de la carne.

II.3.1 Raza

Hay estudios que demuestran que los compuestos de nitrógeno y azufre, aminoácidos libres, alcoholes, aldehídos y cetonas en los compuestos aromáticos volátiles difieren entre carne de diferentes razas de ganado (Insausti et al. 2005). Sin embargo, hay estudios que demuestran pequeñas diferencias en el flavor por efecto de la raza, por ejemplo Warren et al. (2008) obtuvieron calificaciones más bajas ($P < 0,01$) para sabores extraños en carne de la raza Aberdeen Angus que para la raza Holstein y mayores calificaciones para el flavor característico de la carne de la primera raza ($P < 0,001$). Sin embargo, los perfiles sensoriales de estas dos razas eran similares.

Asenjo (1999) observó valores superiores en el flavor a grasa y en el flavor residual en la carne de los animales de raza Serrana respecto la raza Charolés, sin embargo, no se observaron diferencias significativas en el flavor característico por el efecto raza.

Gorraiz et al. (2002) observaron que la carne de ganado Frisón tiene un flavor residual y graso más fuerte, y un perfil volátil diferente que el del ganado Pirenaico. Sato et al. (1995, citado en Brewer 2006) observaron que hamburguesas hechas con carne magra y grasa derivada de ganado Wagyu tienen mejor calidad sensorial que las hechas con grasa de ganado lechero. Estas últimas hamburguesas tienen contenidos relativamente altos de aldehídos y alcoholes.

Boles and Swan (2002, citado en Koutsidis et al. 2008) encontraron que sólo había pequeñas diferencias sensoriales en los asados de carne de vacuno de razas diferentes. Sin embargo, también hay estudios que no encuentran diferencias significativas entre carnes de distintas razas, como por ejemplo Santolaria (1993, citado en Asenjo 1999), que no encontró diferencias significativas en el flavor por efecto de la raza, en añojos de razas Parda Alpina y Pirenaica. Mamaqui (1996, citado en Asenjo 1999) en estas mismas razas tampoco encontró diferencias significativas por este mismo efecto. Campo et al. (1997, citado en Asenjo 1999) tampoco encontraron diferencias

significativas en el flavor global, flavor a hígado y calidad genera del flavor por el efecto de la raza.

II.3.2 Sexo

Respecto al efecto del sexo en el flavor de la carne, Gorraiz et al. (1997, citado en Asenjo 1999) no encontraron diferencias significativas en el flavor característico, flavor a hígado, flavor a grasa, flavor a sangre y flavor residual por efecto del sexo en animales de raza Pirenaica.

En otros estudios realizados en carne de cordero como el realizado por Tejeda et al. (2008) tampoco se observaron diferencias significativas entre la carne de hembras y machos en las características sensoriales, aunque el flavor parece ser el rasgo más afectado. Sin embargo, Channon et al. (1997, citado en Tejeda et al. 2008) encontraron que la intensidad del flavor es mayor en machos que en hembras, siendo las diferencias más evidentes en adultos que en animales jóvenes. Pero por otra parte, Navajas et al. (2008) determinaron que la carne de macho tuvo un flavor extraño más alto que la carne de hembra y la aceptabilidad general fue mayor para la carne de hembra que para la de macho. De acuerdo con estos últimos resultados, Butler-Hogg et al. (1984, citado en Navajas et al. 2008) observaron que los mayores valores para sabores extraños se presentan también en carne de corderos machos. Así mismo, Arsenos et al. (2002, citado en Navajas et al. 2008) no encontraron efectos significativos del sexo en la calidad de la carne, excepto para el flavor, donde la carne de ovejas fue más deseable que la de los machos.

En general, el sexo en la mayoría de los casos no implicó diferencias significativas en el flavor. No obstante, el efecto del sexo está determinado principalmente por el engrasamiento ya que las hembras presentan valores más altos de engrasamiento que los machos (subcutánea, intermuscular y la grasa intramuscular) a una misma edad de sacrificio (Tejeda et al. 2008). Esto se atribuye al hecho de que las hembras muestran una mayor tendencia a acumular grasa desde una edad temprana. Además, Tejada et al. (2008) y Díaz et al. (2003, citado en Tejeda et al. 2008) observaron que el total de AGPI fue mayor en hembras que en machos y estos AGPI tienen gran facilidad de oxidación y por tanto suponen una fuente de compuestos volátiles responsables del flavor.

II.3.3 Edad de sacrificio

Este es un factor muy relacionado con el nivel de engrasamiento del animal, al igual que el sexo como se ha visto anteriormente, puesto que a mayor edad de sacrificio el engrasamiento es mayor y como se ha comentado el flavor de la carne cocinada depende de la formación de compuestos volátiles de la oxidación de grasas (Duckett y Kuber, 2001). Por lo tanto, la cantidad y la composición de la grasa afectan a la intensidad y las características del flavor.

Renand et al. (2001) mostraron que los animales con mayor tasa de crecimiento, es decir, animales que alcanzaron un peso superior a una determinada edad, tendrían a tener carne más tierna, sin efectos sobre el flavor y la jugosidad. Warren et al. (2008) también obtuvieron conclusiones similares, ya que los resultados para los 3 grupos de edad (14, 19 y 24 meses) fueron muy similares y no había evidencia de una disminución de la textura o un aumento del flavor de la carne con la edad. Sin embargo, otro estudio realizado por Schönfeldt et al. (2011) mostró que la intensidad del flavor disminuye con un aumento de la edad. Esto puede deberse a que al aumentar la edad, aumenta el engrasamiento, por lo que hay menos proporción de AGPI y por tanto menor oxidación y menos compuestos volátiles que influyan en el flavor. Esta disminución en flavor con la edad se corresponde con los hallazgos de la Cross et al. (1973, citado en Schönfeldt et al. 2011), quienes encontraron que las calificaciones de flavor fueron más altas para los filetes de animales muy jóvenes, en comparación con los animales de mayor madurez. También se corresponde con los resultados de Moloney et al. (2001, citado en Schönfeldt et al. 2011), quienes encontraron que la intensidad del flavor disminuye a medida que la madurez del tejido magro aumenta.

Por el contrario, estudios realizados sobre carne de cordero determinaron que a mayor edad mayor intensidad de flavor, al igual que el estudio realizado por Martínez-Cerezo et al. (2005) donde determinaron que el flavor se vio afectado por la raza y el peso de sacrificio, siendo éste de mayor intensidad al aumentar el peso. En dicho estudio los panelistas consideraron que los corderos intermedios (20-22kg) y los de principio de engorde (30-32kg) tenían mejor calidad de flavor que los lechales (10-12kg). Jeremías et al. (1998, citado en Martínez-Cerezo et al. 2005) también observaron que la intensidad del flavor a cordero aumentó con la edad a partir de 3-6 meses hasta 6-9 meses, pero las diferencias no fueron significativas.

II.3.4 Dieta

La dieta tiene un papel fundamental en el flavor. Esto se debe principalmente a que la dieta que reciben los animales influye en los ácidos grasos que tiene esa carne y estos ácidos grasos son los precursores de los compuestos volátiles responsables del flavor. La dieta también puede influir en el nivel y tipo de antioxidantes en el músculo procedentes de los alimentos. Un estudio realizado por Warren et al. (2008) determinó que la dieta es un factor que afecta a la calidad sensorial de la carne de manera más importante que la raza.

En general, sistemas extensivos en pastoreo suelen aportar un menor valor energético en la dieta que los sistemas intensivos, basados en la alimentación de los animales con ración a voluntad. Esto deriva en una tasa de crecimiento más baja de los animales y una mayor edad en el momento del sacrificio. Si la carne de ambos sistemas se compara a un mismo peso de sacrificio, los animales de la dieta forrajera habrán sido sacrificados más viejos y probablemente tendrán una mayor cantidad de grasa intramuscular (tejido de crecimiento tardío). Esto afecta a la composición en ácidos grasos (la relación ácidos grasos poliinsaturados/saturados será menor). Sin embargo, si los animales se sacrifican a similar edad, la cantidad de grasa en el músculo puede ser menor en animales de pasto o de bajo aporte energético. En este último caso, la dieta de concentrado más energética y el menor desgaste físico de los animales estabulados, genera una carne con mayor contenido de grasa total. Así, se ha observado que las dietas a base de concentrado provocan un mayor depósito de AGPI n-6, mientras que la ingesta de pastos naturales favorece un mayor contenido de AGPI n-3 en la carne (Tovar et al. 2009). Por ejemplo, los niveles relativos de ácido linoleico (C18:2 n-6) y α -linolénico (C18:3 n-3) en grano y forraje son en gran medida responsables de las diferencias en la fracción volátil, y por lo tanto en el flavor de carne de vacuno terminado con estas dietas (Elmore et al. 1999).

La carne de animales en pastoreo presenta, además, una mayor protección ante la oxidación de lípidos, puesto que el pasto es más rico en antioxidantes naturales que la dieta basada en concentrados (San Julian et al. 2010).

En un estudio de Elmore et al. (2004) que determinaron los compuestos volátiles después de cocinar muestras de carne de vacuno, de los 69 compuestos presentes, 22 fueron afectados por la dieta y 4 por la raza. De los compuestos afectados por la dieta, diversos alcoholes (por ejemplo, 1-octen-3-ol) y aldehídos (por ejemplo, pentanal y hexanal), asociados con productos de oxidación del C18:2 n-6, eran mayores en los animales alimentados con la dieta de concentrado y 2 alcoholes (1-penten-3-ol y cis-2-penten-1-ol), asociados con productos de oxidación del C18:3 n-3, fueron mayores en los animales alimentados con la dieta de silo de hierba. Sin embargo, a pesar de estas claras diferencias en las concentraciones de los compuestos volátiles, el panel de cata sólo detectó diferencias relativamente pequeñas en los sabores de carne debido a la dieta.

Estudios estadounidenses han encontrado que el ganado vacuno alimentado con grano (concentrado) generalmente tiene mejores atributos de terneza y flavor que el ganado alimentado con pasto (Warren et al. 2008).

En un estudio de Elmore et al. (1999) se compararon dietas con distintos niveles de AGPI (Megalac, linaza, aceite de pescado, mezcla de aceite de pescado y linaza). Las muestras de carne cocinada que contenían mayores niveles de AGPI mostraron todas mayores concentraciones de productos de oxidación lipídica. Los aldehídos fueron cuantitativamente la clase más dominante de volátiles en la carne cocinada. Los volátiles más abundantes fueron 2- y 3-metilbutanal y sus concentraciones no fueron afectadas por la naturaleza de la dieta experimental. Sin embargo, las concentraciones de aldehídos alifáticos saturados y monoinsaturados de cadena lineal aumentaron mucho en carne de vacuno con alto contenido de AGPI.

II.3.5 Contenido en grasa

Un aumento de grasa provoca un aumento de la jugosidad (Tovar et al. 2009) y mejora la textura y el flavor, ya que los lípidos intramusculares, triglicéridos y fosfolípidos, están directamente implicados en el desarrollo del aroma en la carne (Renand et al. 2001).

Los fosfolípidos tienen una mayor proporción de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga y por lo tanto, se oxidan más fácilmente que los triglicéridos. También son relativamente constantes en cantidad, ya que en las carnes grasas se produce un aumento de triglicéridos en los adipocitos, mientras que la grasa de las membranas celulares en forma de fosfolípidos (con mayor cantidad de AGPI) permanece constante. En definitiva, a mayor cantidad de grasa en una carne, menor porcentaje de AGPI.

Estos AGPI son compuestos lipídicos precursores del flavor. De su degradación por fenómenos oxidativos se generan compuestos volátiles implicados en el flavor de la carne. De hecho, se ha observado la relación entre la concentración de algunos ácidos grasos con el desarrollo del flavor en la carne de cerdo y con olores agradables e indeseables en la carne de vacuno (Tovar et al. 2009).

Los AGPI tipo n-3 y tipo n-6 tienen gran relevancia en el flavor ya que compuestos volátiles como 1-octen-3-ol, 1-butanol, 1-pentanol, 1-hexanol, pentanal, hexanal, heptanal, octanal, 2-heptanona y 2-pentilfurano derivan de la degradación del ácido graso C18:2 n-6 y otros, como el 1-penten-3-ol, la 2,3-octanodiona y el 2-octeno, parecen derivar de la degradación del C18:3 n-3 (Elmore et al. 2002).

II.3.6 Cocinado

La carne cruda tiene poco flavor, descrito como flavor a sangre, sin embargo, es una fuente de compuestos que sirven como precursores del flavor y el aroma (Brewer 2006). El flavor de la carne se desarrolla especialmente después del cocinado y consta del "flavor a carne" y del "flavor específico de la especie". Éste último tradicionalmente se ha asociado con la porción lipídica porque se liberan más de 650 compuestos volátiles solubles en grasa cuando se calienta la carne (Brewer 2006).

Durante la maduración de la carne se desarrollan los precursores del flavor, y posteriormente con el cocinado se originan compuestos volátiles (responsables del aroma) y no volátiles (responsables del sabor). Por tanto, el flavor de la carne de ternera cocinada está influido por el tiempo de maduración, mejorando con éste su intensidad y su aceptabilidad (Asenjo 1999). Tovar et al. (2009) observan una mejoría considerable del flavor a los 14 días de maduración.

El flavor de la carne, que se desarrolla cuando se aplica calor, depende de las cantidades y proporciones de los compuestos precursores presentes. Proteínas, lípidos e hidratos de carbono juegan papeles principales en el desarrollo del flavor debido a que incluyen numerosos compuestos importantes que son capaces de convertirse en precursores del flavor cuando se calientan (Mottram, 1998).

Este flavor de la carne cocinada, es el resultado del equilibrio entre los productos de oxidación lipídica y la reacción de Maillard (Asenjo 1999). La degradación de los lípidos comienza inmediatamente después de la muerte del animal, de forma que la lipólisis y la oxidación contribuyen a la degradación del flavor. Sin embargo, los lípidos pueden contribuir también a la formación de compuestos de flavor deseable durante el cocinado porque interfieren en la reacción de Maillard (Asenjo 1999).

La reacción de Maillard ha sido considerada como la ruta más importante de formación de muchos de los compuestos volátiles que mejoran el flavor de la carne cocinada (Asenjo 1999). Por esta reacción se forman furanonas, compuestos dicarbonílicos, e hidroxicetonas. También se forman sulfuro de hidrógeno y amoníaco, que son dos de los compuestos aromáticos más agrios generados durante la cocción (Mottram, 1998). Estos compuestos reaccionan para producir una cantidad de componentes que contribuyen al flavor y potentes compuestos odorantes de carnes cocinadas (pirazinas, oxazoles, tiofenos, tiazoles heterocíclicos y otros compuestos que contienen azufre) (Mottram, 1998). De estos compuestos las pirazinas, formadas en su mayoría en la superficie de la carne, tienen aromas a nuez, galleta o pimienta y los tiazoles tienen notas verdes o con sabor a fruta (Brewer 2006).

Johansson et al. (1998, citado en Asenjo 1999) comparando el perfil sensorial según la temperatura de cocinado de la carne de vacuno, encontraron un flavor a hervido

cuando la temperatura de cocinado de la carne era baja, mientras que en las muestras sometidas a temperaturas superiores, se apreció un flavor a frito y una gran intensidad de aroma a carbón. Cuando las temperaturas se elevaron más todavía, predominaron sabores a amargo y a quemado. El calentamiento a temperaturas más bajas ($<165^{\circ}\text{C}$) frente a altas temperaturas ($> 180^{\circ}\text{C}$) resulta en diferencias en las concentraciones de un cierto número de compuestos (2,4-dimetil-3-oxazolina; 2,4,5-trimetil-3-oxazolina; 2,4-dimetil-5-etil-3-oxazolina; 2,5-dimetil-4-etil-3-oxazolina; 2,4-dimetil-3-tiazolina; 2,4,5-trimetil-3-tiazolina) (Brewer 2006). Hay estudios que demuestran que existe una fuerte relación entre la temperatura de cocción, la concentración de aminoácidos libres, carnosina, IMP, pirazinas y hexanol, y la intensidad del flavor a asado, quemado y carne (Brewer 2006).

En general, cuanto mayor sea el grado de calentamiento, mayor es la concentración de aldehídos alifáticos, benzenoides, polisulfuros, compuestos heterocíclicos y compuestos volátiles derivados de lípidos.

CAPÍTULO III

OBJETIVOS

III. OBJETIVOS

El objetivo del presente Trabajo Fin de Carrera es estudiar el perfil aromático de la carne de toros de lidia, faenados y sacrificados en la Feria de San Fermín 2012. Dicho perfil se ha estudiado en carne cruda madurada 24 horas post-mortem y en carne cocinada madurada 14 días.

CAPÍTULO IV

MATERIAL Y MÉTODOS

IV. MATERIAL Y MÉTODOS

IV.1 Sacrificio y toma de muestras

La carne fue obtenida de 9 animales sacrificados durante la Feria de San Fermín 2012. Los animales pertenecían a tres ganaderías. Los toros fueron sacrificados en el ruedo al final de la lidia y las canales se procesaron en las instalaciones de la plaza de toros de Pamplona para luego ser llevadas a las instalaciones del Matadero La Protectora S.A. de Pamplona, donde se colgaron del tendón de Aquiles y se mantuvieron durante 4 horas en oreo (4°C). Posteriormente, las canales fueron refrigeradas durante 24 horas a 2°C y 98% de humedad relativa.

A las 24 horas post-mortem las muestras de carne fueron retiradas del músculo *Longissimus dorsi* (entre la 6ª y 9ª costilla), el cual se dividió en filetes de 1,5 – 2,0 cm de grosor, eliminando su grasa subcutánea. Las muestras fueron cortadas de forma perpendicular a la orientación de las fibras musculares. Las muestras fueron envasadas a vacío y aquellas que no fueron sometidas a maduración se congelaron inmediatamente. El resto de muestras se mantuvieron a 4°C durante 14 días tras los cuales fueron congeladas y almacenadas a -28°C hasta sus análisis. Las muestras fueron identificadas mediante un código compuesto por el año de estudio, la ganadería y el orden en que fue lidiado el animal.

A continuación, se muestra una tabla (Tabla IV.1.1) con las medias de la composición química más importantes para cada ganadería.

Tabla IV.1.1 Medias de la composición química de cada ganadería.

	Ganadería 1	Ganadería 2	Ganadería 3
Humedad (%)	74	73,3	73,2
Proteína (%)	24,7	22,7	21,8
Grasa (%)	1,4	2,5	2,7
pH	5,82	5,96	5,94

IV.2 Preparación culinaria de las muestras

Las muestras que se encontraban envasadas a vacío se sacaron del arcón frigorífico 24 horas antes de su análisis, y se mantuvieron en un frigorífico a 4°C hasta su análisis. Una vez que las muestras estaban descongeladas, se procedió a la apertura del envase protector. Las muestras de 0 días se analizaron crudas por lo que tras la apertura del envase se procedió al picado de la muestra y a su posterior análisis.

Las muestras de 14 días de maduración se analizaron cocinadas. Para el cocinado se empleó una plancha convencional, que se calentó hasta 200°C. Las muestras antes de cocinarlas se envolvieron en papel de aluminio, una vez puesta la muestra en la plancha se controló la temperatura con una sonda hasta que alcanzó una temperatura de 30°C en el interior de la misma, tras lo cual se le dió la vuelta cocinándose hasta alcanzar una temperatura de 70°C en el interior de la muestra. Una vez alcanzada la temperatura, se procedió al picado de la muestra y a su posterior análisis.

IV.3 Análisis instrumental

- IV.3.1 Extracción de los compuestos volátiles

Después de proceder al cortado y picado de la muestra a analizar, ésta se metió en un vial, y se insertó en un concentrador de muestra de Tekmar-Dorhmann 3100, Ohio, EEUU. Para la extracción de los compuestos volátiles, se empleó la técnica de espacio de cabeza dinámico. Para que la muestra no se enfriara, el vial era metido dentro de una camisa calefactora, manteniéndolo a una temperatura de 70°C. A continuación, la muestra era purgada durante 20 minutos con un flujo de Helio (99,99 % de pureza) de 40 mL/min para arrastrar todos los compuestos volátiles presentes en el espacio de cabeza. Los volátiles, fueron recogidos en una trampa de Tenax CG. Durante esta fase se mantuvo la temperatura de la trampa a 15°C. Después se llevó acabo la fase de desorción térmica, donde la trampa fue calentada hasta 225°C durante 2 minutos, y en donde los compuestos volátiles fueron arrastrados con helio a 40 mL/min hasta el cromatógrafo de gases.

- IV.3.2 Separación y cuantificación de los compuestos volátiles

Después de la extracción de los compuestos volátiles, éstos deben ser separados y cuantificados.

Este proceso se realizó con un cromatógrafo de gases HP-6890 (Hewlett-packard, España), conectado a un espectrómetro de masas de cuadrupolo HP 5973 (Hewlett-packard, España) con ionización electrónica. El inyector con división (1:5) estaba a una temperatura de 250 °C. Se utilizó una columna capilar HP-5 de 5% fenilmetilsilicona (50 m x 320 µm x 1,05 µm) y helio (pureza 99,9 %) como gas portador con una presión en cabeza de columna de 6 psi y un flujo de salida de columna de 1,5 mL/min a 35°C. La temperatura inicial del horno se programó a 35°C y se mantuvo durante 15 minutos, para después incrementarla a razón de 8°C/min hasta alcanzar los 220°C donde se mantuvo durante 5 minutos.

El cromatógrafo estaba acoplado con un espectrómetro de masas HP-5973. El voltaje de ionización, se mantuvo en 70 eV, el voltaje del multiplicador del electrón en 2000 V, la temperatura de la fuente de ión a 23 °C, y la temperatura del cuadrupolo en 180°C. El barrido se realizó de 30 hasta 250 uma y la frecuencia del mismo fue de 3,32 scan/s.

- **IV.3.3 Identificación de los compuestos volátiles**

Los espectros obtenidos, se compararon con los de referencia recogidos en la librería Willey 275.

La confirmación de las identificaciones se realizó calculando los índices de retención relativos (Van del Dool y Kratz, 1963) de los compuestos volátiles en relación a los tiempos de retención en una serie de parafinas (C5-C18, HP 5080-8768) que se determinaron en las mismas condiciones. Se compararon a su vez con los índices relativos de dichos compuestos hallados en la bibliografía.

Los resultados de la cuantificación de cada compuesto detectado se presentan en cuentas de área.

- **IV.3.4 Análisis complementarios**

· Ácidos grasos

Para el análisis del contenido en ácidos grasos se tomaron muestras del músculo longissimus dorsi a la altura de la 7ª vértebra torácica 24 horas después del sacrificio y se maduraron a vacío durante 2 días. Posteriormente, las muestras se congelaron a -20°C para su conservación hasta el momento del análisis. El método de extracción de la grasa fue el descrito por Aldai et al. (2005). El perfil de ácidos grasos se analizó mediante cromatografía de gases con el equipo GC 7890 con splitless inlet y detector FID con una columna de 120 m y helio como gas portador.

· Análisis sensorial

La preparación culinaria de las muestras fue la misma que la descrita en el apartado IV.2. Los parámetros analizados fueron: intensidad del olor, olor característico de vacuno, olor a hígado, intensidad del flavor, flavor característico de vacuno, flavor a hígado, flavor a sangre y persistencia del flavor. Fueron evaluados en una escala de 150cm, situando en el extremo izquierdo la intensidad débil del parámetro estudiado y en el extremo derecho la intensidad muy alta.

IV.4 Análisis estadístico

Para el tratamiento estadístico de los datos obtenidos, se empleó el programa estadístico IBM SPSS Statistics 21.

- Análisis de la varianza

Modelo para el tratamiento de los datos para el análisis instrumental

Para el análisis de los datos se empleó un modelo lineal univariante (modelo de tipo II), en el que se tomó el siguiente modelo para la carne madurada 24 horas y 14 días de forma independiente:

- $Y_{ij} = \mu + A_j + e_{ij}$
- **Y_{ij}** : se define como el número de observaciones (compuestos volátiles)
- **μ** : media mínimo cuadrática
- **A_j** : efecto fijo debido a la ganadería (j=1, ganadería 1; j=2, ganadería 2; y j=3, ganadería 3)
- **E_{ij}** : efecto residual aleatorio.

Así mismo, se aplicó el test a posteriori, Tukey.

- Análisis de correlación

Se empleó la correlación de Pearson, para relacionar las diferentes variables estudiadas entre sí. Se estudiaron las correlaciones entre los compuestos detectados y entre éstos y los atributos sensoriales, el perfil de ácidos grasos y el porcentaje de grasa intramuscular.

- Análisis factorial

El análisis factorial, utilizando el análisis de componentes principales (PCA), se aplicó con el fin de ver las relaciones existentes entre los compuestos volátiles detectados, los ácidos grasos y los atributos sensoriales.

CAPÍTULO V

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

V.1 Perfil de los compuestos volátiles

En la tabla V.1.1 se presentan los compuestos volátiles detectados en el espacio de cabeza de la carne de toro de lidia ordenados según su naturaleza química, además de mostrar el Tiempo de Retención y el índice de Retención Relativo para I_{DB-5} , junto con las identificaciones IR (Índice de Retención) y MS (espectrofotometría de masas), la media mínimo cuadrática del valor detectado de área y el porcentaje relativo de dicha área respecto a la total (PRA).

Se han identificado un total de 21 compuestos volátiles. Estos compuestos pertenecen a las siguientes familias: Hidrocarburos alifáticos, aldehídos alifáticos, cetonas alifáticas, hidrocarburos aromáticos, compuestos azufrados, alcoholes alifáticos y ésteres.

Se han detectado 6 hidrocarburos alifáticos, 8 aldehídos alifáticos, 4 cetonas alifáticas, 2 alcoholes alifáticos, 1 hidrocarburo aromático, 1 compuesto azufrado y 1 éster. Los compuestos con mayor PRA han sido la 2-propanona y el etanol.

Tabla V.1.1. Compuestos volátiles detectados en el espacio de cabeza dinámico en muestras de carne del músculo *logissimus dorsi* de toro de lidia.

	TR (min)	IDB-5	IR	MS	Área	PRA
HIDROCARBUROS ALIFÁTICOS						
Etano-1,1'-oxybis	4,251	503	+	+	11911131	5,15
Pentano, 2-metil	5,686	552		+	1110058	0,48
Octano	21,432	793		+	2488911	1,08
Heptano-2,2,2,6,6-pentametil	28,553	982	+	+	309286	0,13
ALDEHIDOS ALIFÁTICOS						
Etanal	3,056	-		+	4535177	1,96
Isobutanal	5,473	545		+	836633	0,36
Butanal	6,642	585		+	298528	0,13
Pentanal	13,711	687		+	1037464	0,45
Hexanal	21,466	794	+	+	7281071	3,15
Heptanal	25,685	892	+	+	3255135	1,41
Octanal	28,836	991	+	+	1951870	0,84
Nonanal	31,447	1092	+	+	1618852	0,70
CETONAS ALIFÁTICAS						
2-propanona	4,042	-		+	90536411	39,14
2,3-butanodiona	6,463	579	+	+	6400282	2,77
2-butanona	6,788	590	+	+	6329284	2,74
2-pentanona	12,82	675	+	+	863145	0,37
HIDROCARBUROS AROMÁTICOS						
Tolueno	19,67	769	+	+	194095	0,08
COMPUESTOS AZUFRADOS						
Metano tiobis	4,577	514	+	+	2100380	0,91
ALCOHOLES ALIFÁTICOS						
Etanol	3,615	-		+	81488819	35,22
1-propanol	5,511	546		+	2208158	0,95
ÉSTERES						
Ácido acético, etil ester	7,678	608		+	1735750	0,75

TR: tiempo de retención, IDB-5: índice de retención relativo, IR: identificación por el índice de retención, MS: identificación por espectrofotometría de masas, Área: media mínimo cuadrática del valor detectado de área y PRA: porcentaje relativo del área respecto a la total.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla V.1.2 se observan los valores de frecuencia absoluta con la que se han detectado los compuestos volátiles diferenciando entre las tres ganaderías estudiadas, tanto en las muestras crudas como en las cocinadas.

Tabla V.1.2. Frecuencia absoluta de aparición de los compuestos volátiles detectados en el espacio de cabeza dinámico en muestras de carne del músculo *logissimus dorsi* de toro de lidia.

	Ganadería 1		Ganadería 2		Ganadería 3	
	Crudo (n=3)	Cocinado (n=4)	Crudo (n=3)	Cocinado (n=5)	Crudo (n=3)	Cocinado (n=6)
HIDROCARBUROS ALIFÁTICOS						
Etano-1,1'-oxybis	0	2	0	2	0	0
Pentano, 2-metil	0	1	0	3	0	4
Octano	3	1	3	5	1	6
Heptano-2,2,4,6,6-pentametil	0	3	0	5	0	5
ALDEHIDOS ALIFÁTICOS						
Etanal	3	4	3	5	3	6
Isobutanal	0	4	0	5	0	6
Butanal	0	3	0	2	0	2
Pentanal	0	3	0	1	0	0
Hexanal	1	4	0	4	1	6
Heptanal	1	4	0	2	1	4
Octanal	2	4	1	5	2	6
Nonanal	2	4	1	5	2	6
CETONAS ALIFÁTICAS						
2-propanona	3	4	3	5	3	6
2,3-butanodiona	0	0	1	1	0	2
2-butanona	3	4	3	4	3	6
2-pentanona	1	0	0	1	0	4
HIDROCARBUROS AROMÁTICOS						
Tolueno	0	2	0	3	0	4
COMPUESTOS AZUFRADOS						
Metano tiobis	3	4	3	5	3	6
ALCOHOLES ALIFÁTICOS						
Etanol	3	4	3	5	3	6
1-propanol	0	4	0	0	0	1
ÉSTERES						
Ácido acético, etil ester	0	2	0	0	0	3

Se puede observar como en prácticamente todas las familias, exceptuando en los compuestos azufrados, los compuestos tienen una mayor frecuencia de aparición en las muestras maduras cocinadas que en las crudas sin madurar.

En la familia de los hidrocarburos alifáticos el único compuesto detectado en todas las ganaderías y para ambos tratamientos ha sido el octano. Pentano 2-metil y heptano-2,2,4,6,6-pentametil se observan en todas las ganaderías pero sólo en cocinado. El heptano-2,2,4,6,6-pentametil se relaciona con el flavor característico de la carne de ternera cocinada según Gorraiz et al. (2002). Por último, el etano-1,1'-oxybis sólo aparece en las ganaderías 1 y 2 con tratamiento de cocinado.

La familia de los aldehídos alifáticos es una de las más representativas, debido tanto a su elevado número de compuestos como a la presencia de los mismos. Esto mismo ocurre en los estudios realizados por Van Ba et al. (2013) y por Elmore et al. (1999). Estos compuestos volátiles son formados por la oxidación térmica de las cadenas de los ácidos grasos de triglicéridos y fosfolípidos (Elmore et al. 1999), principalmente por la oxidación de los AGPI. Exceptuando el pentanal, el resto de compuestos se encuentran en las tres ganaderías con el tratamiento de cocinado. El etanal es el aldehído que aparece en todas las muestras en ambos tratamientos, Gorraiz et al. (2002) lo relacionan con la percepción de los aromas extraños en carne cocinada. Octanal y nonanal no aparecen en todas las muestras pero sí lo hacen en las tres ganaderías para ambos tratamientos, los dos compuestos se relacionan con el olor a jabón (Insausti et al. 2002) y a notas verdes (Jiang et al. 2011) y junto con el heptanal provienen de la oxidación del oleico C18:1n9 (Van Ba et al. 2013). El isobutanal también tiene relevancia ya que aparece en todas las muestras cocinadas. El hexanal presenta el mayor PRA (3,15%) de los aldehídos, supone uno de los mayores productos de la oxidación lipídica procedente de la oxidación del linoléico, del oleico y del araquidónico (Jiang et al. 2011). Se relaciona con flavor a hierba cortada y rancidez (Insausti et al. 2002).

Las cetonas tienen su origen en los procesos de degradación/oxidación de los AGPI (Tovar et al. 2009). La 2-propanona aparece en todas las muestras para ambos tratamientos y en las tres ganaderías, además tiene el PRA más elevado (39%). Esto también ocurre en los estudios de Insausti et al. (2002) y de Gorraiz (1999). Este compuesto se relaciona positivamente con un flavor agrio, y con descriptores de flavor de la grasa de vacuno cocinada (Larick y Turner 1990). La 2-butanona aparece en casi todas las muestras por lo que también tiene gran importancia. La 2,3-butanodiona y la 2-pentanona no tienen una elevada presencia en las muestras, aunque la 2,3-butanodiona tiene un PRA similar al de la 2-butanona. Ésta según Dainty et al. (1989, citado en Insausti et al. 2002) estaba relacionada con la detección de olores a cremoso, leche y queso, que no eran suficientemente intensos o desagradables para que la carne se considerase como en mal estado, sino más bien como no fresca.

De la familia de los hidrocarburos aromáticos sólo aparece el tolueno, éste lo hace en las muestras cocinadas y con una presencia similar en las tres ganaderías.

Perteneciente a la familia de los compuestos azufrados únicamente se encuentra al metano tiobis (DMS) que aparece en todas las muestras de ambos tratamientos y de las tres ganaderías. Los compuestos azufrados son muy importantes para la contribución en los perfiles de sabor de carne cocinada, debido a sus bajos umbrales de olor detectables. Es muy probable que se origine a partir de aminoácidos que contienen azufre tales como cisteína y metionina (Insausti et al. 2002). El DMS está relacionado con el olor a col y a agrio y también se utiliza como un descriptor del flavor a grasa cocinada de carne de vacuno (Larick and Turner 1990).

En la familia de los alcoholes alifáticos aparece el etanol en todas las muestras y con un elevado PRA total (35%), este compuesto se relaciona con un flavor dulce (Tovar et al. 2009). También aparece el 1-propanol pero no tiene especial relevancia aromática.

Por último, en la familia de los ésteres se observa el ácido acético, etil éster que sólo aparece en cocinado y en las ganaderías 1 y 3 con una presencia no muy elevada.

En la figura V.1.1 se representan los porcentajes del número de compuestos volátiles según su naturaleza química.

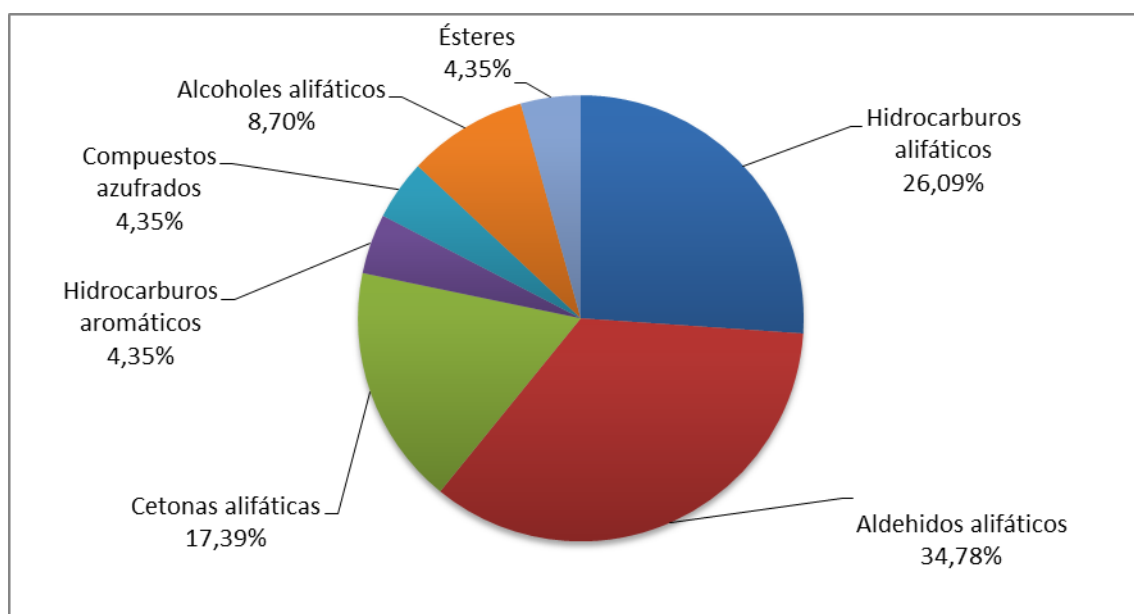


Figura V.1.1 Porcentaje del número de compuestos volátiles según su naturaleza química detectado en el espacio de cabeza dinámico de muestras de carne del músculo longissimus dorsi de toro de lidia.

Se puede observar como los aldehídos alifáticos son la mayoría de los compuestos detectados con un 34,78%, seguidos de los hidrocarburos alifáticos con un 26,09% y de las cetonas alifáticas, aunque éstas últimas con mayor diferencia con un 17,39%. Los compuestos restantes pertenecen a alcoholes alifáticos con un 8,7% y con un 4,35% ésteres, compuestos azufrados e hidrocarburos aromáticos.

En la figura V.1.2 se representan los porcentajes relativos de área de los compuestos volátiles según su naturaleza química.

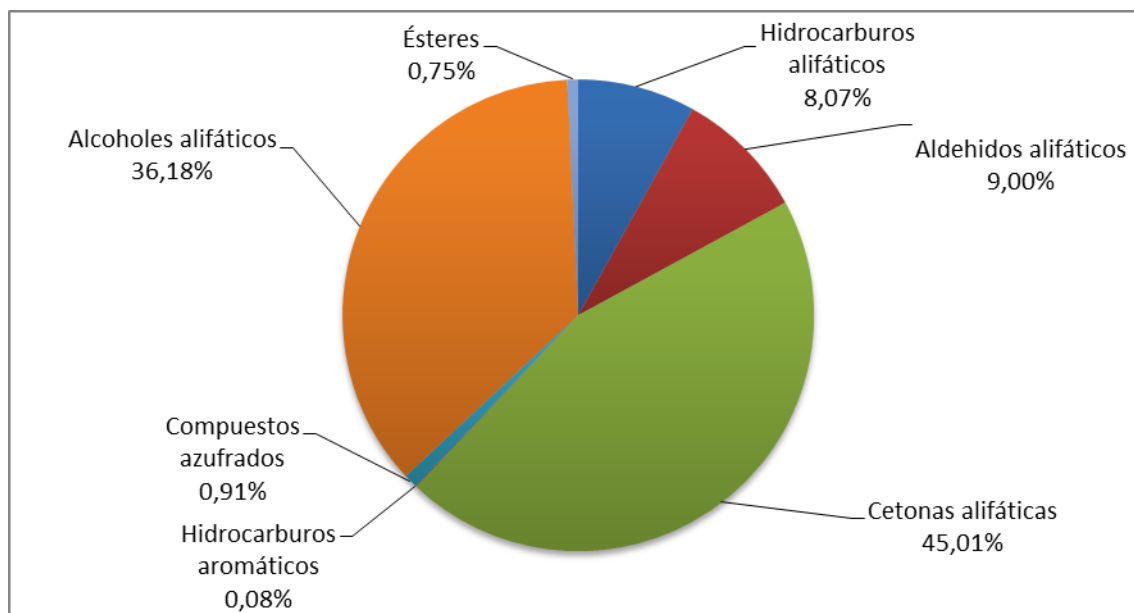


Figura V.1.2. Porcentaje relativo de área (PRA) de los compuestos volátiles según su naturaleza química detectados en el espacio de cabeza dinámico del músculo longissimus dorsi de toro de lidia.

Se observa una gran diferencia de porcentajes cuando se representan los porcentajes relativos de área (PRA) de los compuestos volátiles detectados. Los mayores valores son de la familia de las cetonas alifáticas que representan un 45,01% y de los alcoholes alifáticos que representan un 36,18%. Estas dos familias sin embargo, no tenían tanta importancia en el porcentaje del número de compuestos volátiles. Les siguen los aldehídos alifáticos con un 9% y los hidrocarburos alifáticos con un 8,07%, ambos de importante presencia en el número de compuestos volátiles. Por último, se encuentran los compuestos azufrados 0,91%, los ésteres 0,75% y los hidrocarburos aromáticos 0,08%, que también tenían poca importancia en presencia numérica.

Dentro de la familia de las cetonas alifáticas ese alto porcentaje del 45,01% se debe principalmente al alto PRA de la 2-propanona con un 39,14%. Esta alta presencia de la 2-propanona también ocurre en el estudio realizado por Insausti et al. (2005). Al igual

que le pasa a la familia de los alcoholes alifáticos que tienen un PRA de 36,18% dentro de los cuales el etanol tiene un 35,22%. La familia de las cetonas alifáticas tiene su origen en los procesos de oxidación de los AGPI y en las altas temperaturas, y aporta tonos frutales, florales y/o herbales. La presencia de los alcoholes alifáticos se debe a la oxidación lipídica de los ácidos grasos, el mayoritario en este caso, el etanol, que se asocia con animales con alto porcentaje de grasa intramuscular (Insausti et al. 2005).

Los aldehídos alifáticos disminuyen mucho su importancia cuando se habla de PRA ya que tan sólo tienen un 9%, dentro de los cuales destaca el hexanal con un 3,15%. Esta familia es producto de la oxidación de los ácidos grasos insaturados que se descomponen a temperaturas de alrededor de 60 ° C (Insausti et al. 2005) y el hexanal es un importante aldehído que se utiliza como marcador de dicha oxidación (Insausti et al. 2002). Normalmente la presencia de este compuesto se relaciona con una alimentación a base de grano (Elmore et al. 2004). A pesar de su aparente menor importancia debido al pequeño PRA, los aldehídos tienen bajos umbrales de detección de olor, por lo tanto, las pequeñas cantidades pueden ejercer una enorme influencia en el olor.

Los hidrocarburos alifáticos al igual que los aldehídos, disminuyen su importancia al hablar de PRA. Representan un 8,07%. Esto puede deberse a que su contribución al flavor de la carne no es significativa, aunque tenga una elevada presencia numérica, además sus umbrales de detección son muy altos. Dentro de ellos el etano-1,1'-oxybis es el de mayor importancia con un 5,15% de PRA.

Ésteres, hidrocarburos aromáticos y compuestos azufrados representan un PRA poco significativo.

Como conclusión, se puede indicar que generalmente hay mayor número de compuestos y en mayor cantidad en las muestras maduradas 14 días y cocinadas, que en las muestras sin madurar ni cocinar. Respecto a la importancia en el perfil aromático, tanto cetonas como aldehídos tienen gran importancia, las primeras tienen elevada presencia numérica y PRA en las muestras y su contribución al flavor es importante. Sin embargo, los aldehídos tienen elevada presencia numérica y bajo PRA, pero a pesar de esto tienen bajos umbrales de detección de olor, por lo que su influencia en el flavor también será importante.

V.2 Efecto de la ganadería y el tiempo de maduración sobre el perfil de compuestos volátiles

En la tabla V.2.1 se puede observar como sólo hay 5 compuestos que presentan diferencias significativas: etanal, hexanal, octanal, nonanal y etanol. En cuanto al efecto ganadería aquellos que presentan un efecto significativo son los aldehídos alifáticos etanal, octanal y nonanal ($p < 0,01$) y el alcohol alifático etanol ($p < 0,001$).

Respecto el efecto maduración, el etanal y el etanol presentan un efecto significativo con una $p < 0,001$, mientras que octanal y nonanal presentan una significación de $p < 0,01$. Estos resultados se relacionan con los obtenidos en el estudio realizado por Insausti et al. (2005) en el que el etanol también se veía afectado por la maduración. También pueden relacionarse con el estudio de Gandemer (1998, citado en Insausti et al. 2002) en el que considera al octanal y nonanal como marcadores de la oxidación de la carne.

Los compuestos que presentan una interacción ganadería por maduración son: etanal, octanal, nonanal y etanol.

Por último, se analiza el efecto de la ganadería para cada maduración. Para la carne sin madurar el único compuesto que tiene significación es el nonanal. Para la carne madurada 14 días tienen significación hexanal, etanal, octanal, nonanal y etanol. Aquí se puede observar como la maduración tiene especial efecto en estos compuestos procedentes todos de la oxidación de ácidos grasos insaturados, para los que la maduración es un efecto importante para su formación.

Con estos resultados se puede observar como el etanol teniendo un gran PRA sí que ha tenido una importante significación, al contrario que le ha pasado a la 2-propanona, que con un PRA similar no ha tenido efectos significativos. Sin embargo, octanal y nonanal que no poseen un alto PRA sí han tenido efectos significativos. También se observa como la familia de los aldehídos alifáticos es la que posee mayor número de compuestos con significación en todos los análisis. Esto puede deberse como describió Elmore et al. (1999), a una alta tasa de ácidos grasos n3 en la dieta, ya que este tipo de alimentación supone mayores productos de degradación lipídica, especialmente de aldehídos. Esto es importante ya que tienen bajos umbrales de olor que se cree que son la razón de los cambios en la modificación del flavor de la carne de vacuno.

Tabla V.2.1. Niveles de significación estadística de los factores ganadería, maduración, de las interacciones ganadería por maduración y de los efectos de la ganadería para cada maduración (tanto la de 0 días como la de 14 días) del análisis de la varianza para los compuestos volátiles detectados en el músculo longissimus dorsi de toro de lidia.

	Ganadería	Maduración	Gan x Mad	Efecto ganadería para cada maduración	
				0 días	14 días
HIDROCARBUROS ALIFÁTICOS					
Etano-1,1´-oxybis	ns	-	-	-	ns
Pentano, 2-metil	ns	-	-	-	ns
Octano	ns	ns	ns	ns	ns
Heptano-2,2,2,6,6-pentametil	ns	-	-	-	ns
ALDEHIDOS ALIFÁTICOS					
Etanal	**	***	*	ns	**
Isobutanal	ns	-	-	-	ns
Butanal	ns	-	-	-	ns
Pentanal	ns	-	-	-	ns
Hexanal	ns	ns	ns	-	*
Heptanal	ns	ns	ns	ns	ns
Octanal	**	**	**	ns	***
Nonanal	**	**	**	*	***
CETONAS ALIFÁTICAS					
2-propanona	ns	ns	ns	ns	ns
2,3-butanodiona	ns	ns	-	-	ns
2-butanona	ns	ns	ns	ns	ns
2-pentanona	ns	-	-	-	ns
HIDROCARBUROS AROMÁTICOS					
Tolueno	ns	-	-	-	ns
COMPUESTOS AZUFRADOS					
Metano tiobis	ns	ns	ns	ns	ns
ALCOHOLES ALIFÁTICOS					
Etanol	***	***	***	ns	***
1-propanol	ns	-	-	-	ns
ÉSTERES					
Ácido acético, etil ester	ns	-	-	-	ns

ns: no significativo; * p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001; - efecto no analizado.

En la tabla V.2.2 se muestran las medias por compuestos y por ganaderías en la carne madurada 24 horas. Si se diferencia por compuestos, se puede observar como el más abundante respecto el área es la 2-propanona, seguido por el metano tiobis y el etanal, pero en ningún caso existen diferencias significativas entre ganaderías.

Diferenciando por ganadería se puede observar como generalmente la ganadería uno tiene mayores valores medios de área que las otras dos ganaderías, pero las diferencias no fueron significativas. Con estos datos se puede suponer que los animales de la ganadería uno poseen mayor concentración de AGPI que han dado lugar mediante la oxidación a una cantidad mayor de compuestos volátiles, especialmente aldehídos y cetonas.

El único compuesto que presentaba diferencias significativas era el nonanal, pero no se puede hacer el post hoc debido a que en la ganadería dos únicamente tenemos un dato.

Tabla V.2.2. Media de áreas para el factor ganadería sin maduración en los compuestos volátiles detectados en el espacio cabeza dinámico en las muestras de carne del músculo longissimus dorsi de toro de lidia. (Media de áreas x 10³).

	Media áreas Ganadería 1	Media áreas Ganadería 2	Media áreas Ganadería 3	SEM	P
HIDROCARBUROS ALIFÁTICOS					
Octano	536	552	225	263	ns
ALDEHIDOS ALIFÁTICOS					
Etanal	1886	1248	1368	295	ns
Heptanal	639	-	496	-	ns
Octanal	524	272	593	88	ns
Nonanal	389	168	318	13	ns
CETONAS ALIFÁTICAS					
2-propanona	106376	93681	89686	21139	ns
2-butanona	13603	4955	3307	2845	ns
COMPUESTOS AZUFRADOS					
Metano tiobis	3154	948	1322	707	ns
ALCOHOLES ALIFÁTICOS					
Etanol	2045	2028	934	527	ns

ns: no significativo; * p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001; - efecto no analizado.

En la tabla V.2.3 si se diferencia por compuestos se puede observar como nuevamente la 2-propanona es uno de los compuestos con mayor media de área. También se pueden destacar el etanol, el etanal y el hexanal.

En los compuestos que tienen diferencias significativas, se puede observar como para todos ellos se diferencia la ganadería uno respecto las otras dos ganaderías presentando valores de área mayores. Esto podría deberse a que la ganadería uno ha utilizado una dieta en la que ha proporcionado mayor cantidad de concentrado, como se observó en el estudio realizado por Elmore et al. (2004) en el que los animales alimentados con concentrado poseían unos valores de pentanal, hexanal, heptanal y octanal más elevados que los de animales alimentados con dietas basadas en forraje. La diferencia de etanol entre la ganadería uno y las otras dos es contradictoria con lo que se ha comentado hasta ahora de que a mayor cantidad de etanol, mayor cantidad de grasa intramuscular, ya que la ganadería uno es la que menos grasa intramuscular presentó (Tabla IV.1.1).

Tabla V.2.3. Media de áreas para el factor ganadería con 14 días de maduración en los compuestos volátiles detectados en el espacio cabeza dinámico en las muestras de carne del músculo longissimus dorsi de toro de lidia. (Media de áreas x 10³).

	Media áreas Ganadería 1	Media áreas Ganadería 2	Media áreas Ganadería 3	SEM	P
HIDROCARBUROS ALIFÁTICOS					
Etano-1,1'-oxybis	3708	20114	-	3961	ns
Pentano, 2-metil	1948	1624	516	310	ns
Octano	928	6368	1838	3233	ns
Heptano-2,2,2,6,6-pentametil	375	403	176	170	ns
ALDEHIDOS ALIFÁTICOS					
Etanal	10008 ^a	5200 ^b	4884 ^b	941	**
Isobutanal	408	730	1211	193	ns
Butanal	330	334	216	160	ns
Pentanal	1004	1138	-	361	ns
Hexanal	20298 ^a	3613 ^b	2763 ^b	2812	*
Heptanal	6828	3065	1121	1212	ns
Octanal	6502 ^a	1161 ^b	787 ^b	602	***
Nonanal	5242 ^a	1039 ^b	772 ^b	423	***
CETONAS ALIFÁTICAS					
2-propanona	71405	78547	104215	8662	ns
2,3-butanodiona	-	2545	10252	6010	ns
2-butanona	5942	5237	5877	1072	ns
2-pentanona	-	492	983	253	ns
HIDROCARBUROS AROMÁTICOS					
Tolueno	239	131	219	39	ns
COMPUESTOS AZUFRADOS					
Metano tiobis	1493	1607	3355	470	ns
ALCOHOLES ALIFÁTICOS					
Etanol	246011 ^a	117040 ^b	61912 ^b	16346	***
1-propanol	2371	-	1557	614	ns
ÉSTERES					
Ácido acético, etil ester	1285	-	2037	580	ns

ns: no significativo; * p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001; - efecto no analizado.

Como conclusión, se puede decir que 5 son los compuestos que presentan diferencias significativas (etanal, hexanal, octanal, nonanal y etanol). Con el efecto ganadería lo hacen etanal, octanal, nonanal y etanol, con el efecto maduración etanal, etanol, octanal y nonanal, con la interacción ganadería por maduración etanal, octanal, nonanal y etanol y analizando el efecto de la ganadería, sin maduración se ve afectado sólo el nonanal y con maduración hexanal, etanal, octanal, nonanal y etanol. De esta manera se observa como la familia de los aldehídos es la que tiene más compuestos afectados. Del análisis de las medias, tanto sin madurar cómo con la carne madurada, se puede observar cómo se diferencia la ganadería uno respecto las otras dos, teniendo generalmente mayores valores medios de área de estos compuestos volátiles.

V.3 Análisis de correlación de los compuestos volátiles con el perfil de ácidos grasos y la valoración sensorial de la carne

Se han hecho correlaciones entre los ácidos grasos, los compuestos volátiles, los parámetros sensoriales y la grasa intramuscular. A continuación, se muestran los resultados de aquellas correlaciones que han sido significativas. Cabe destacar que el porcentaje de grasa intramuscular no presentó ninguna correlación significativa con ninguna de las variables estudiadas.

En la tabla V.3.1 puede observarse como el nonanal es el compuesto volátil con más correlaciones a maduración de 0 días, ya que se relaciona positivamente con el γ -linolénico (C18:3n6), con el ácido araquidónico (C20:4n6), con el eicosapentanoico (EPA) y con la suma total de n3. Le sigue la 2-butanona que se relaciona positivamente con el ácido oleico (C18:1n9c) y con el C20:3n6 (eicosatrienoico). La 2-propanona y el octanal se relacionan positivamente con el linoleico. El etanol es el único compuesto volátil con una relación negativa, en este caso con el ácido docosapentanoico (DPA).

Tabla V.3.1. Correlaciones entre ácidos grasos y compuestos volátiles a 0 días de maduración.

	C18:1n9c	C18:2n6t	C18:3n6	C20:3n6	C20:4n6	C20:5n3 (EPA)	C22:5n3 (DPA)	n3
Octanal	0,477	0,943*	0,78	0,563	0,39	0,604	0,445	0,324
Nonanal	-0,053	-0,349	0,903*	0,811	0,926*	0,909*	0,45	0,940*
2-propanona	0,259	0,846**	0,323	0,382	0,223	0,305	-0,582	-0,227
2-butanona	0,675*	0,414	0,274	0,692*	0,332	0,53	-0,341	0,007
Etanol	-0,045	0,334	-0,314	-0,145	-0,19	-0,424	-0,716*	-0,388

ns: no significativo; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; - efecto no analizado.

Algunas de estas relaciones cobran sentido ya que el octanal, por ejemplo, es un producto de la oxidación del linoleico (Elmore et al. 2004), por lo que es normal que se relacione con dicho ácido graso. Sin embargo, otras son contradictorias con otros estudios, ya que el nonanal según diferentes estudios procede de la oxidación del oleico (Tudela, 2006), pero en este estudio no tiene ninguna relación significativa con el mismo, pero sí que la tiene con otros compuestos. A pesar de todo, hay que tener en cuenta que son muestras sin madurar por lo que los ácidos grasos no se han oxidado en gran cantidad como para dar lugar a importantes cantidades de dichos compuestos volátiles.

En la tabla V.3.2 se muestran las correlaciones en carne madurada 14 días. Se puede observar como el octanal es el volátil con mayor relación con los ácidos grasos, ya que se relaciona positivamente con el transvaccénico (C18:1n11t), eicosapentanoico (EPA), docosahexanoico (DHA), con el total de AGPI y con el total de n6. También tiene relación, pero negativa, con el linoleico, C20:1n9 (eicosanoico) y con la suma total de ácidos grasos saturados. La relación negativa con el linoleico es coherente con estudios anteriores que demuestran que es un producto de oxidación de dicho ácido graso, como se ha comentado anteriormente (Elmore et al. 2002), ya que al ser muestras maduras dicho ácido graso se ha oxidado dando origen al octanal. El tolueno es otro compuesto volátil con varias relaciones, lo hace positivamente con el oleico, el EPA y la suma de ácidos grasos monoinsaturados, y negativamente con linoleico, C20:1n9 (eicosanoico) y la suma total de ácidos grasos saturados. Los hidrocarburos aromáticos proceden de la descomposición térmica de los lípidos (Insausti et al. 2002), por lo que es lógico que aparezca en estas muestras ya que han sido cocinadas. Se puede observar como el octanal y tolueno se relacionan negativamente con los mismos ácidos grasos.

Las relaciones que presenta el isobutanol son todas negativas. Se relaciona con el transvaccénico, el DPA, la suma de AGPI y la suma total de n6. El metano tiobis se relaciona positivamente con el C20:3n6 (eicosatrienoico) y negativamente con el γ -linolénico, esta misma relación negativa entre DMS y γ -linolénico ocurre en el estudio de Insausti et al. (2008). El etanol se relaciona positivamente con el EPA y negativamente con la suma de los ácidos grasos saturados. Por último, los compuestos volátiles que menos relación tienen con los ácidos grasos son octano, etanal y nonanal, estos dos últimos se relacionan negativamente con el C20:1n9 (eicosanoico). El octano se relaciona negativamente con el linolénico.

El único atributo sensorial que tiene relación con los ácidos grasos es el olor a hígado. La mayoría de sus relaciones son negativas y lo hace con el linolénico, C20:3n3 (eicosatrienoico), el EPA, el DPA, el DHA, la suma de AGPI y la suma total de n3. La única relación positiva que tiene es con la suma de ácidos grasos saturados. Observando las relaciones, se podría decir que el olor a hígado proviene probablemente de la oxidación de los ácidos grasos omega 3.

Tabla V.3.2. Correlaciones entre ácidos grasos y compuestos volátiles y análisis sensorial a 14 días de maduración.

	Octano	Etanal	Isobutanal	Octanal	Nonanal	Tolueno	Metano tiobis	Etanol	Olor a hígado
C18:1n11t	-0,377	0,395	-0,711*	0,707*	0,503	0,508	0,032	0,555	-0,608
C18:1n9c	-0,6	0,522	0,317	0,65	0,572	0,832*	-0,173	0,605	-0,539
C18:2n6t	0,142	-0,551	0,381	-0,788*	-0,633	-0,801*	0,184	-0,637	0,404
C18:3n6	0,511	-0,168	0,313	-0,019	-0,143	-0,042	-0,699*	0,19	0,481
C18:3n3	-0,788*	0,253	-0,64	0,391	0,303	0,175	0,183	0,322	-0,806**
C20:1n9	0,205	-0,671*	0,256	-0,677*	-0,681*	-0,896**	0,305	-0,62	0,53
C20:3n6	-0,206	0,41	-0,096	-0,476	-0,414	-0,616	0,782*	0,566	0,123
C20:3n3	-0,568	0,514	-0,607	0,578	0,538	0,632	-0,085	0,507	-0,888**
C20:5n3 (EPA)	-0,231	0,633	-0,473	0,732*	0,666	0,850*	-0,347	0,675*	-0,694*
C22:5n3 (DPA)	-0,343	0,394	-0,734*	0,656	0,473	0,472	-0,227	0,599	-0,77*
C22:6n3 (DHA)	-0,427	0,525	-0,628	0,708*	0,583	0,696	-0,213	0,626	-0,787*
SFA	0,507	-0,541	0,507	-0,739*	-0,605	-0,851*	0,315	-0,703*	0,683*
MFA	-0,584	0,491	-0,229	0,587	0,527	0,787*	-0,296	0,611	-0,504
PFA	-0,134	0,44	-0,693*	0,703*	0,519	0,546	-0,244	0,605	-0,695*
n3	-0,579	0,48	-0,664	0,646	0,536	0,631	-0,121	0,576	-0,843**
n6	0,41	0,401	-0,68*	0,689*	0,487	0,498	0,269	0,583	-0,618

ns: no significativo; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; - efecto no analizado.

En la tabla V.3.3 puede observarse como el flavor a sangre es el atributo sensorial que más afectado se encuentra por los compuestos volátiles, ya que se relaciona positivamente con butanal, tolueno y heptano,2,2,4,6,6-pentametil. La relación positiva con el tolueno ya había sido descrita anteriormente en el estudio de Larick y Turner (1990). La valoración global también se ve afectada por dos volátiles, tiene relación positiva con el metano tiobis, mientras que la relación con el pentano,2-metil es negativa. La relación positiva con el metano tiobis puede relacionarse con diferentes estudios que muestran como un descenso en dicho compuesto supone un aumento de sabores extraños o rancios (Insausti et al. 2008).

Tabla V.3.3. Correlaciones entre compuestos volátiles y análisis sensorial a los 14 días de maduración.

	Flavor sangre	Val. Global
Pentano,2-metil	0,485	-0,935**
Butanal	0,792*	-0,445
Tolueno	0,775*	0,291
Heptano,2,2,4,6,6-pentametil	0,766*	-0,47
Metano tiobis	0,066	0,730*

ns: no significativo; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; - efecto no analizado.

Como conclusión, se puede decir que se ve un aumento de las correlaciones entre ácidos grasos y compuestos volátiles con la maduración y el cocinado de la carne, esto se debe a que la oxidación de dichos ácidos grasos da lugar a los compuestos volátiles. El nonanal es el volátil con mayor número de correlaciones con ácidos grasos en la carne sin madurar y el octanal el que tiene mayor número de correlaciones en la carne madurada 14 días. El único atributo sensorial con correlaciones con los ácidos grasos es el olor a hígado. Sin embargo, los atributos afectados por los compuestos volátiles son el flavor a sangre y la valoración global.

V.4 Análisis factorial

Tras realizar un análisis factorial con los datos obtenidos de muestras sin madurar, se han obtenido tres factores que juntos explican el 100% de la varianza total (siendo el 44,44%, 28,93% y 26,63% para cada uno de los tres factores, respectivamente). Cada una de las variables se ve relacionada de diferente modo con cada uno de los factores, como se observa en la tabla V.4.1. De este modo, tanto en dicha tabla como en la figura V.4.1 puede observarse como el factor 1 relaciona positivamente la 2-propanona, la 2-butanona, el octanal, el ácido eicosatrienoico (C20:3n6), el linoleico, el oleico y el EPA, y estas variables se relacionan negativamente con el ácido DPA. Algunas de estas relaciones positivas corroboran correlaciones halladas en la tabla V.3.1, como pueden ser la relación de la 2-propanona con el linoleico o la de la 2-butanona con el oleico y el eicosatrienoico (C20:3n6). El factor 2 relaciona positivamente el ácido araquidónico, la suma del total de n3, el etanol y el nonanal, en contra del octanal, estas relaciones también corroboran correlaciones halladas entre nonanal, araquidónico y la suma de n3.

Tabla V.4.1. Matriz rotada obtenida a partir del análisis factorial de los ácidos grasos y los compuestos volátiles de la carne de toro de lidia sin madurar.

	Componente		
	1 (45%)	2 (29%)	3 (27%)
C18:1n9c	1,000	-0,019	0,024
C18:2n6t	0,616	-0,294	0,731
C18:3n6	0,103	0,189	0,977
C20:3n6	0,897	0,385	-0,217
C20:4n6	0,315	0,930	0,190
C20:5n3 (EPA)	0,766	0,348	0,541
C22:5n3 (DPA)	-0,529	0,056	0,847
n3	-0,042	0,989	-0,142
2-Butanona	1,000	0,024	-0,001
2-Propanona	0,968	0,215	0,130
Octanal	0,622	-0,647	0,442
Nonanal	0,533	0,842	0,083
Etanol	-0,094	0,591	-0,801

Representando las ganaderías estudiadas sobre el espacio bidimensional formado por los factores 1 y 2 (figura V.4.2), no se observan resultados concluyentes debido a que las ganaderías no se separan. Además, no aparece la ganadería dos en el gráfico debido a que no hay datos suficientes de esa ganadería en algunos de los compuestos volátiles.

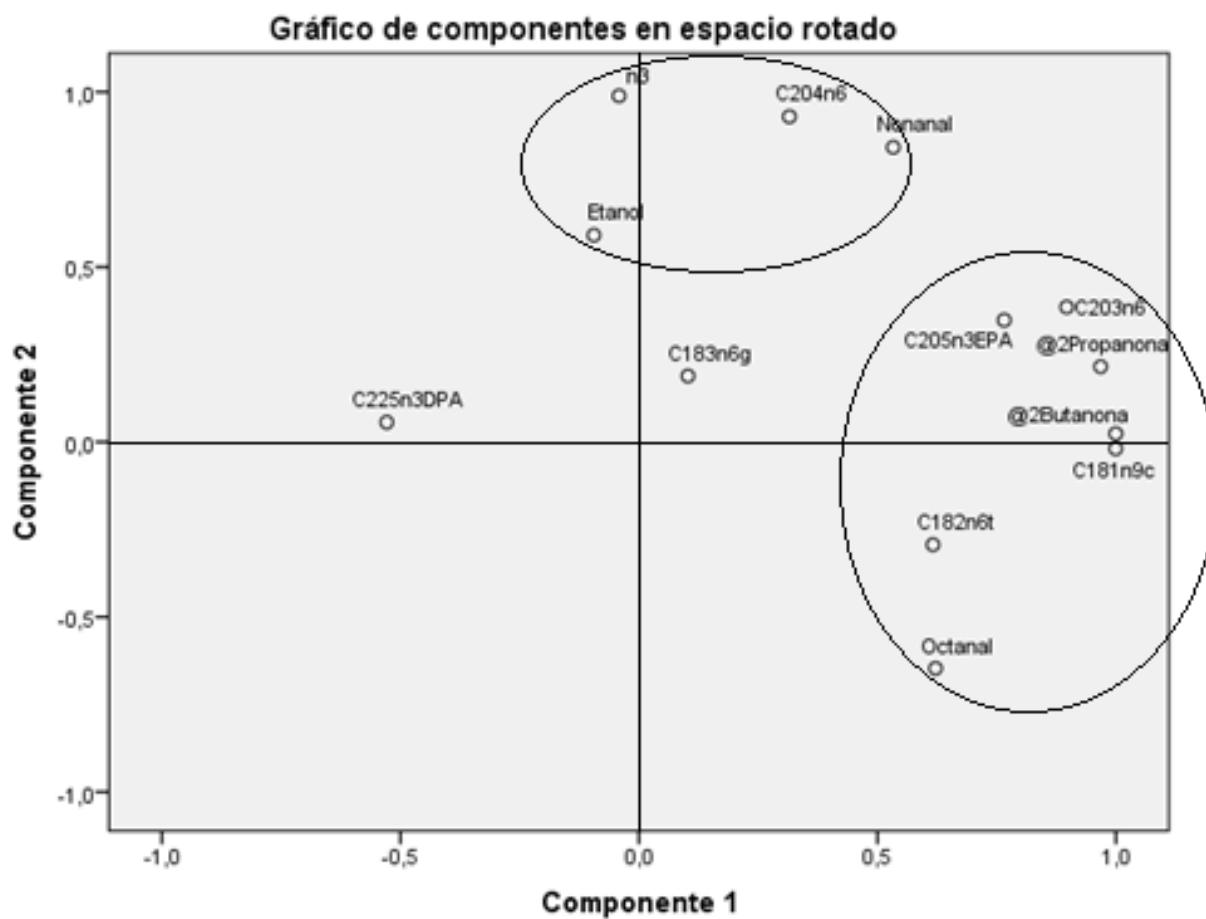


Figura V.4.1. Representación de los compuestos volátiles y la composición lipídica en el espacio bidimensional formado por los factores 1 y 2 de la carne de toro de lidia sin madurar.

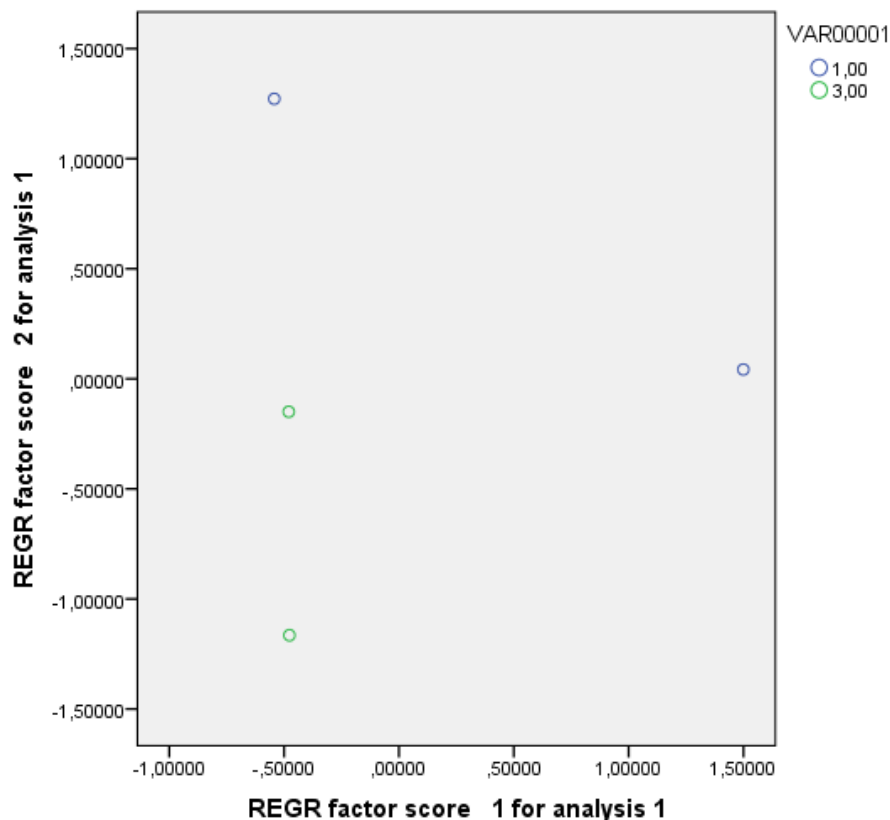


Figura V.4.2. Representación de las ganaderías en el espacio bidimensional formado por los factores 1 y 2 de la carne de toro de lidia sin madurar.

Tras realizar un análisis factorial con los datos obtenidos en muestras tras 14 días de maduración, se han obtenido tres factores que juntos explican un 80,14% de la varianza total (siendo el 37,16%, 26,84% y 16,14% para cada uno de los tres factores, respectivamente). Cada una de las variables se ve relacionada de diferente modo con cada uno de los factores, como se observa en la tabla V.4.2. De esta manera, en dicha tabla y en la figura V.4.3 se puede ver cómo el factor 1 relaciona positivamente los ácidos grasos transvaccénico, linolénico, eicosatrienoico (C20:3n3), EPA, DPA, DHA, la suma de PUFA, la suma de n3 y la suma de n6 y estas variables se relacionan negativamente con el olor a hígado, el isobutanol y el octano. Esto puede relacionarse con las correlaciones negativas que se han encontrado del olor a hígado con la mayoría de los ácidos grasos n3 y con las del isobutanol con el transvaccénico, el DPA, la suma de PUFA y de n6. La relación del olor a hígado con los AGPI ya fue descrita por Stetzer (2008, citado en Van Ba et al. 2013) que concluyó que la oxidación de los AGPI produce olor a hígado. El factor 2 relaciona positivamente el oleico, el EPA, la suma del total de MUFA y el tolueno, en contra del linoleico, eicosatrienoico (C20:3n6), eicosanoico (20:1n9) y la suma total de SFA. Estas relaciones corroboran las

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

correlaciones encontradas entre tolueno, EPA, oleico, suma de MUFA y linoleico, eicosanoico (C20:1n9) y SFA.

Tabla V.4.2. Matriz rotada obtenida a partir del análisis factorial de los ácidos grasos, el análisis sensorial y los compuestos volátiles de la carne de toro de lidia madurada 14 días y cocinada.

	Componente				
	1 (37%)	2 (27%)	3 (16%)	4 (13%)	5 (7%)
transva C18:1n1 lt	0,645	0,338	0,242	0,606	-0,208
C18:1n9c	0,034	0,944	0,327	0,036	0,007
C18:2n6t	-0,180	-0,831	-0,397	-0,312	-0,151
C18:3n6	-0,407	0,214	-0,058	-0,863	-0,201
C18:3n3	0,837	-0,162	0,109	0,506	0,073
C20:1n9	-0,271	-0,916	-0,255	0,147	-0,034
C20:3n6	-0,053	-0,634	-0,189	0,694	-0,277
C20:3n3	0,919	0,292	0,176	0,100	0,170
C20:5n3 (EPA)	0,646	0,705	0,238	-0,157	0,065
C22:5n3 (DPA)	0,978	0,143	0,145	0,033	-0,018
C22:6n3 (DHA)	0,863	0,416	0,241	0,070	0,139
SFA	-0,552	-0,768	-0,300	0,122	-0,027
MFA	-0,054	0,925	0,261	-0,270	-0,031
PFA	0,947	0,221	0,195	0,100	0,077
n3	0,912	0,325	0,202	0,134	0,065
n6	0,959	0,164	0,189	0,100	0,090
Olor hígado	-0,914	-0,133	-0,336	0,053	0,174
Flavor hígado	0,200	0,078	-0,122	-0,083	0,965
Isobutanol	-0,603	0,444	-0,333	-0,158	0,551
Octanal	0,342	0,315	0,885	0,006	0,001
Tolueno	0,343	0,900	-0,208	0,015	0,170
Metano tiobis	0,033	0,031	-0,278	0,941	-0,186
Octano	-0,762	0,408	-0,016	-0,035	0,501
Etanal	0,392	0,397	0,829	-0,034	-0,025
Nonanal	0,339	0,325	0,879	0,017	-0,083
Etanol	0,157	0,076	0,846	-0,459	-0,209

Representando las ganaderías gráficamente sobre el espacio bidimensional formado por los factores 1 y 2 (figura V.4.4), no se observan resultados concluyentes debido a que las ganaderías no se separan claramente.

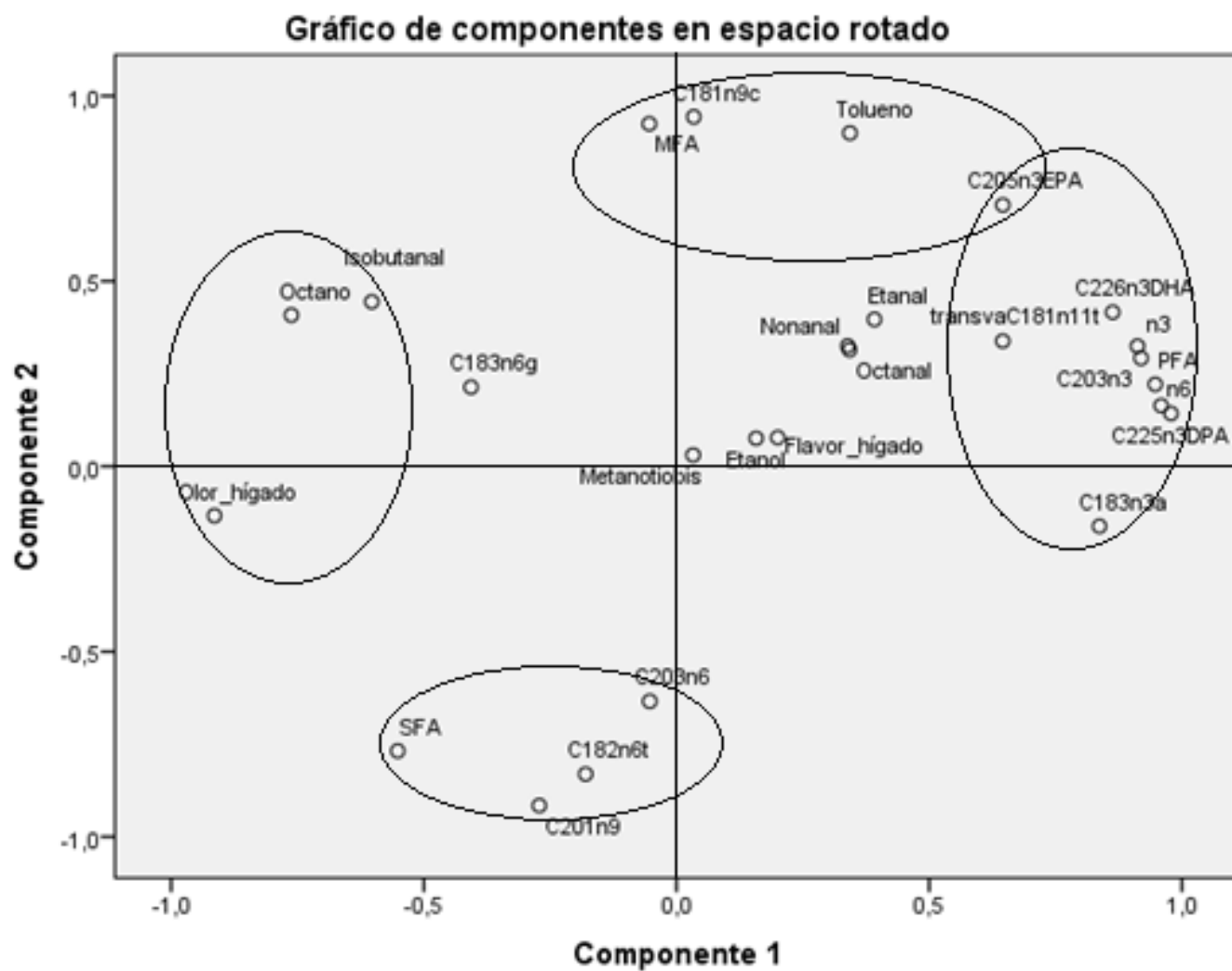


Figura V.4.3. Representación de los compuestos volátiles, la composición lipídica y el análisis sensorial en el espacio bidimensional formado por los factores 1 y 2 de la carne de toro de lidia madurada 14 días y cocinada.

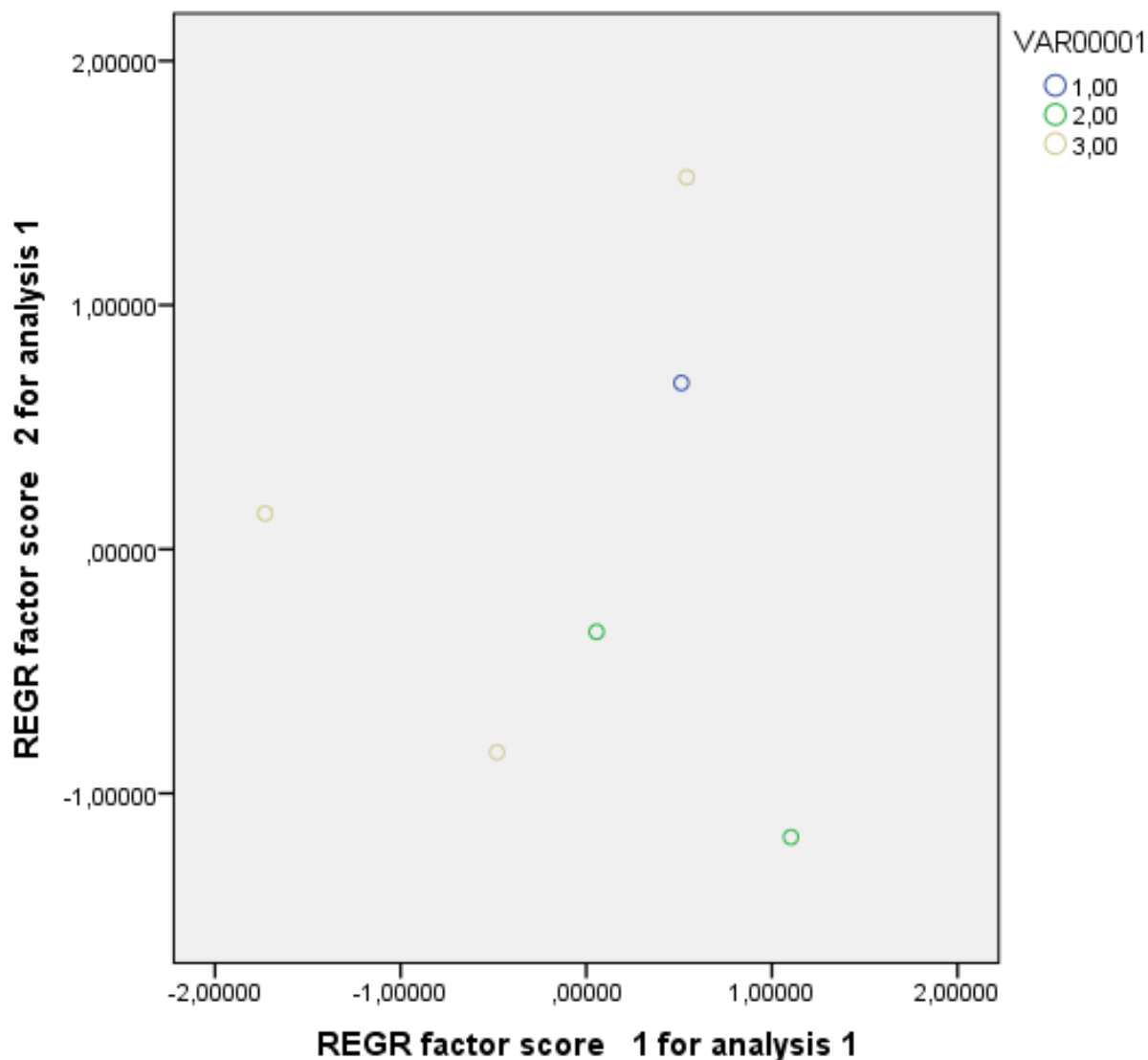


Figura V.4.4. Representación de las ganaderías en el espacio bidimensional formado por los factores 1 y 2 de la carne de toro de lidia madurada 14 días y cocinada.

Como conclusión, se puede decir que el análisis factorial, tanto de la carne sin madurar como el de la carne madurada, sirve para apoyar ciertas correlaciones halladas en el apartado anterior, como pueden ser las de la 2-propanona o la 2-butanona en la carne sin madurar o las del olor a hígado en la carne madurada. Sin embargo, en ninguno de los dos casos se pueden encontrar diferencias claras entre las ganaderías, como ocurría en las comparaciones de las medias de áreas de los compuestos volátiles realizadas anteriormente.

CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES

VI. CONCLUSIONES

Con el material y métodos empleados y a partir de los resultados obtenidos, en el presente trabajo se han obtenido las siguientes conclusiones:

- El perfil de compuestos volátiles identificados en el músculo longissimus dorsi de toros lidiados en la feria de San Fermín 2012, está constituido por 21 compuestos volátiles, en su mayoría aldehídos alifáticos, hidrocarburos alifáticos, cetonas alifáticas y alcoholes alifáticos y en menor medida compuestos azufrados, hidrocarburos aromáticos y ésteres.
- Los compuestos volátiles con mayor presencia (PRA) han sido la 2-propanona y el etanol. La 2-propanona lo hace tanto en la carne cruda madurada 24 horas como en la cocinada madurada 14 días, mientras que el etanol únicamente es mayoritario en la carne cocinada madurada 14 días. De ellos la 2-propanona no presenta diferencias significativas ni por ganadería ni por maduración. Sin embargo, el etanol sí que lo hace, tanto por ganadería como por maduración, siendo más abundante conforme aumenta la maduración y para la ganadería 1.
- Etanal, octanal y nonanal también presentan diferencias significativas entre ganaderías y maduración, mientras que el hexanal sólo lo hace por maduración. Se observa como la familia de los aldehídos alifáticos es la más afectada, debido a que la mayoría de los compuestos con diferencias significativas son aldehídos.
- El contenido de grasa intramuscular no muestra correlaciones significativas con ninguno de los parámetros estudiados. Por tanto, las diferencias percibidas en la composición de los compuestos volátiles estarían más relacionadas con su distinta composición en fracciones lipídicas y ácidos grasos que con el nivel de engrasamiento de la carne. Así, por ejemplo, una disminución del linoleico y del linolénico está relacionada con un aumento en el tolueno y en el octano, respectivamente.
- El butanol, tolueno y heptano, 2,2,4,6,6-pentametil están relacionados positivamente con el flavor a sangre. El DMS se relaciona positivamente con la valoración global, por lo que un descenso en dicho compuesto puede suponer un aumento a sabores extraños.
- Veinte de los 21 compuestos volátiles encontrados en las muestras de carne de toro coinciden con el perfil aromático de otros estudios de carne de ternera. Las principales diferencias son que la carne de toro posee más etanol (PRA), algo más de 2-propanona y menos etano-1,1'-oxybis, DMS y hexanal.

CAPÍTULO VII

BIBLIOGRAFÍA

VII. BIBLIOGRAFÍA

Asenjo Martín, Begoña. 1999. Efecto de la raza y la alimentación en los parámetros productivos y de calidad de canal y de carne en añejos de razas charolés y serrana soriana. Tesis de doctorado.

Beriain, M.J.; Horcada, A.; Lizaso, G.; Insausti, K.; Purroy, A. (2011). Meat quality from fighting bulls in Spain.. Revista Científica, FCV-LUZ / Vol. XXI, Nº 1, 88 – 95.

Brewer, M.S. (2006). The Chemistry of beef flavour. Department of Food Science and Human Nutrition, University of Illinois.

Caballero, J.R. Producción de carne de toro de lidia. E.U. Ingeniería Técnica Agrícola de Ciudad Real. Universidad de Castilla -La Mancha.

De las Heras, J. (2012). Caracterización físico-química de la carne de toro de lidia. Trabajo fin de carrera. Universidad Pública de Navarra.

Duckett, S. K.; Kuber, P.S. (2001). Genetic and nutritional effects on lamb flavor. J. Anim. Sci. 79(Suppl.): E249–E259.

Elmore, J. S., Warren, H. E., Mottram, D. S., Scollan, N. D., Enser, M., Richardson, R. I., et al. (2004). A comparison of the aroma volatiles and fatty acid compositions of grilled beef muscle from Aberdeen Angus and Holstein-Friesian steers fed diets based on silage or concentrates. Meat Science, 68, 27–33.

Elmore, J.S.; Campo, M.M.; Enser, M. y Mottram, D. (2002). Effect of Lipid Composition on Meat-Like Model System Containing Cysteine, Ribose and Polyunsaturated fatty acids. Journal of Agricultural Food Chemistry 50, 1126-1132.

Elmore, J.S.; Mottram, D.S.; Enser, M.; Wood, J.D. (1999). Effect of the polyunsaturated fatty acid composition of beef muscle on the profile of aroma volatiles. J. Agric. Food Chem. 47: 1619-1625.

Gorraiz, C.; Beriain, M.J.; Chasco, J.; and Insausti, K. (2002). Effect of aging time on volatile compounds, odor, and flavor of cooked beef from Pirenaica and Friesian bulls and heifers. J. Food Sci. 67:916-922.

Gorraiz C. (1999). Calidad sensorial de la carne de ternera de las razas Pirenaica y Frisona. Universidad Pública de Navarra. Tesis.

Guadayon, J.M.; Baquero, T.; Caixach, J. (1997). Aplicación de las técnicas de espacio de cabeza a la extracción de los compuestos orgánicos volátiles de la oleoresina de pimentón. ISSN 0017-3495, Vol. 48, Nº 1, págs. 1-5.

- Insausti, K.; Beriain, M.J.; Lizaso, G.; Carr, T.R.; Purroy, A. (2008). Multivariate study of different beef quality traits from local Spanish cattle breeds. *Animal* (2008), 2:3, pp 447–458.
- Insausti, K.; Goñi, V.; Petri, E.; Gorraiz, C.; Beriain, M.J. (2005). Effect of weight at slaughter on the volatile compounds of cooked beef from Spanish cattle breeds. *Meat Science* 70:83-90.
- Insausti, K.; Beriain, M.J.; Gorraiz, C.; Purroy, A. (2002). Volatile Compounds of Raw Beef from 5 Local Spanish Cattle Breeds Stored Under Modified Atmosphere. *Journal of food science*: Vol. 67, Nr.4: 1580-1589.
- Insausti, Kizkitza. (2001). Efecto del envasado en la calidad de la carne de ternera de razas autóctonas españolas. Tesis.
- Jiang, T.; Busboom, J.R.; Nelson, M.L.; Mengarelli, R. (2011). Omega-3 fatty acids affected human perception of ground beef negatively. *Meat science* 89: 390-399.
- Koutsidis, G.; Elmore, J.S.; Oruna-Concha, M.J.; Campo, M.M; Wood, J.D.; Mottram, D.S. (2008). Water-soluble precursors of beef flavour: I. Effect of diet and breed. *Meat Science* 79: 124–130.
- Larick D.K.; Turner B.E. (1990). Headspace volatiles and sensory characteristics of ground beef from forage- and grain-fed heifers. *J Food Sci* 54: 649-654.
- Lomillos, J.M.; Alonso, M.E.; Sánchez-García, C. y Gaudioso, V. (2012). Ensayo: Evolución del sector del toro de lidia en España. *Información técnica económica agraria*, Vol. 108 N° 2: 207-221.
- Machiels, D.; Van Ruth, S.M.; Posthumus, M.A.; Istasse, L. (2003). Gas chromatography-olfactometry analysis of the volatile compounds of two commercial Irish beef meats. *Talanta* 60: 755-764.
- Martínez-Cerezo, S.; Sañudo, C.; Medel, I.; Olleta, J.L. (2005). Breed, slaughter weight and ageing time effects on sensory characteristics of lamb. *Meat Science* 69: 571–578.
- Micol, D.; Santé-Lhoutellier, V.; Sans, P.; Fiot, I.; Gatellier, P.; Durand, D.; Picard, B. (2007). La denominación “Taureau de Camargue”. “Características específicas de su carne. VIII Symposium del Toro de Lidia Zafra, 26 y 27 de octubre. España. 4 pp. 2007.
- Monsón, F.; Sañudo, C.; Sierra, I. (2005). Influence of breed and ageing time on the sensory meat quality and consumer acceptability in intensively reared beef. *Meat Science* 71: 471–479.
- Mottram, D.S. 1998. Flavor formation in meat and meat products: a review. *Food Chem.* 62:415-424.

- Navajas, E.A.; Lambe, N.R.; Fisher, A.V.; Nute, G.R.; Bünger, L.; Simm, G. (2008). Muscularity and eating quality of lambs: Effects of breed, sex and selection of sires using muscularity measurements by computed tomography. *Meat Science* 79: 105–112.
- Orrillo Cerdán, Naiara. (2010). Estudio e identificación de animales de la raza bovina de lidia de Casta Navarra.
- Pham, A.J.; Schilling, M.W.; Mikel, W.B.; Williams, J.B.; Martin, J.M.; Coggins, P.C. (2008). Relationships between sensory descriptors, consumer acceptability and volatile flavor compounds of American dry-cured ham. *Meat Science* 80: 728–737.
- Prescott, J.; Young, O.; O'Neill, L. (2001). The impact of variations in flavor compounds on meat acceptability: a comparison of Japanese and New Zealand consumers. *Food Quality and Preference* 12: 257–264.
- Purroy, A.; Azpilicueta, G.; Alzón, M. (2003). Ponencia IV. III Jornadas sobre ganado de lidia. Escuela técnica superior de ingenieros agrónomos. Universidad Pública de Navarra.
- Renand, G.; Picard, B.; Touraille, C.; Berge, P.; Lepeti, J. (2001). Relationships between muscle characteristics and meat quality traits of young Charolais bulls. *Meat Science* 59: 49–60.
- Reta, Miguel y Arrizabalaga, Belén. (2010). Ganado bravo de Navarra. Capítulo 7. ITG ganadero.
- Robbins, K.; Jensena, J.; Ryana, K.J.; Homco-Ryana, C.; McKeithb, F.K.; Brewer, M.S. (2003). Consumer attitudes towards beef and acceptability of enhanced beef. *Meat Science* 65: 721–729.
- Rodas-González, A.; Huerta-Leidenz, N.; Jerez-Timaure, N.; Miller, M.F. (2009). Establishing tenderness thresholds of Venezuelan beef steaks using consumer and trained sensory panels. *Meat Science* 83: 218–223.
- Rodríguez, A. (1996). Zootecnia. Bases de producción animal. Tomo XI. Producciones equinas y de ganado de lidia. Capítulo XVI. Buxadé, Carlos.
- Ruiz Darbonnens, Marta. (2012). Efecto de la alimentación en el perfil aromático de la carne cocinada de cordero de la raza Navarra. Trabajo final de Carrera.
- Ruiz, J.; García, C.; Muriel, E.; Andrés, A.I.; Ventanas, J. (2002). Influence of sensory characteristics on the acceptability of dry-cured ham. *Meat Science* 61: 347–354.
- Ruiz, J.; Cava, R.; Ventanas, J.; Jensen, M.T. (1998). Headspace Solid Phase Microextraction for the Analysis of Volatiles in a Meat Product: Dry-Cured Iberian Ham. *J. Agric. Food Chem.* 46, 4688-4694.

BIBLIOGRAFÍA

San Julián, R.; Montossi, F.; Resconi, V.C.; Campo, M.M.; Sañudo, C.; Escudero, A.; Ferreira, V. (2010). El aroma de la carne de cordero. Revista INIA - Nº 23. Diciembre 2010.

Schönfeldt, H.C.; Strydom, P.E. (2011). Effect of age and cut on cooking loss, juiciness and flavour of South African beef. *Meat Science* 87: 180–190.

Tejeda, J.F.; Peña, R.E.; Andrés, A.I. (2008). Effect of live weight and sex on physico-chemical and sensorial characteristics of Merino lamb meat. *Meat Science* 80: 1061–1067.

Tovar, J.; Tovar, J.; García, C. (2009). Caracterización de la carne de la IGP Ternera de Extremadura.

Tudela, Ruben. (2006). Perfil aromático de la carne de cordero de raza Navarra. Mayo 2006. Trabajo final de carrera.

Van Ba, Hoa; Amna, Touseef; Hwang, Inho. (2013). Significant influence of particular unsaturated fatty acids and pH on the volatile compounds in meat-like model systems. *Meat Science* 94: 480–488.

Warren, H.E.; Scollan, N.D.; Nute, G.R.; Hughes, S.I.; Wood, J.D.; Richardson, R.I. (2008). Effects of breed and a concentrate or grass silage diet on beef quality in cattle of 3 ages. II: Meat stability and flavor. *Meat Science* 78: 270–278.

Watkins, P.J.; Rose, G.; Warner, R.D.; Dunshea, F.R.; Pethick, D.W. (2012). A comparison of solid-phase microextraction (SPME) with simultaneous distillation–extraction (SDE) for the analysis of volatile compounds in heated beef and sheep fats. *Meat Science* 91: 99–107.

Real Decreto 260/2002 de 8 de marzo (BOE 15/3/2002)

www.toroslidia.com